



FIOCRUZ

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM
SAÚDE E MEDICINA INVESTIGATIVA**

TESE DE DOUTORADO

**AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIA OTIMIZADA PARA TRIAGEM
E ELIMINAÇÃO DE CÃES NO CONTROLE DA
LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA**

SIMONE SOUZA DE OLIVEIRA

Salvador - Brasil
2011

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM
SAÚDE E MEDICINA INVESTIGATIVA**

**AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIA OTIMIZADA PARA TRIAGEM
E ELIMINAÇÃO DE CÃES NO CONTROLE DA
LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA**

SIMONE SOUZA DE OLIVEIRA

Orientador: Prof. Dr. Edson Duarte
Moreira Jr.

Tese apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Biotecnologia em
Saúde e Medicina Investigativa para
obtenção do título de Doutor

Salvador - Brasil
2011

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

Oliveira, Simone Souza de
O48a Avaliação de estratégia otimizada para triagem e eliminação de cães no controle da
Leishmaniose Visceral Humana [manuscrito] / Simone Souza de Oliveira. - 2011.
112 f. : il. ; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).

**Tese (doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo
Moniz,**

2011.

Orientador: Prof. Dr. Edson Duarte Moreira Jr., Laboratório de Epidemiologia
Molecular e Bioestatística.

1. Leishmaniose visceral. 2. Controle. 3. Incidência.. 4. Prevenção. I.Título.

CDU 616.993.161-08

“Este caminho que eu mesmo escolhi não é tão fácil seguir...”

(Raul Seixas)

*Aos meus filhos Camila e Vitor pelo apoio e confiança.
A Evandro pela cumplicidade, compreensão e amor incondicional.
Ao meu orientador pelo exemplo de conduta profissional, competência, dedicação e
incentivo.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS por ter permitido realizar mais um grande sonho em minha vida;

A minha família sempre presente em todos os momentos, incentivando meu crescimento profissional e perdoadando minhas ausências.....

A todos os colegas do Laboratório de Epidemiologia Molecular e Bioestatística por me acolher e fazer-me sentir verdadeiramente “em casa”;

A Rai, por estar sempre disponível e por ser mais do que estatisticamente significativa;

Aos professores Lain Pontes e Washington Luis pelas contribuições na qualificação;

A Taty (Secretária do LEMB) e Taise (Coordenação de Ensino) pela disponibilidade, e carinho;

Aos professores e colaboradores do Curso de Pós-graduação em Biotecnologia e Medicina Investigativa pela experiência e aprendizagem;

A Secretaria do Planejamento, Ciência e Tecnologia/Centro de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (SEPALNTEC/ CADCT) do Estado da Bahia pelo apoio financeiro – Convênio nº 119/98 – Projeto 03100571.609

A Diretora do Centro de Referência em Doenças Endêmicas Pirajá da Silva Sra. Eliana Góes Nascimento e toda equipe do Programa Integrado de Endemias em Jequié (PIEJ) pelo apoio no desenvolvimento das atividades;

A comunidade de Jequié e a equipe de campo que proporcionam a realização desta pesquisa;

Aos amigos Cristóvão Madureira e Gervasio Barbosa pelo incentivo, apoio e carinho;

A Universidade Estadual de Feira de Santana, pelo apoio, incentivo e valorização da qualificação do corpo docente;

Aos professores do Departamento de Ciências Biológicas da Área II João Francisco dos Santos, Silvane Braga, Edson Camandaroba que não mediram esforços para assumirem as disciplinas Parasitologia Humana I e Parasitologia Humana II durante meu afastamento da UEFS. Minha eterna gratidão e carinho;

Aos membros da Banca de Defesa de Tese: Dr. Eduardo Martins Netto (UFBA), Dr. Lain Carlos Pontes de Carvalho (CPqGM) e Dr. Jackson Mauricio Lopes Costa (PqGM) pelo privilégio da participação de três grandes pesquisadores colaborando na conclusão deste estudo;

Enfim, a todas as pessoas, que mesmo sem saber, contribuíram com pequenas ações, gestos e palavras durante a minha caminhada para realização desta grande conquista.

OLIVEIRA, S. O. **Avaliação de estratégia otimizada para triagem e eliminação de cães no controle da leishmaniose visceral humana**, Salvador, 2011. 112p. Tese (Doutorado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A Leishmaniose Visceral Humana (LVH) é uma das seis endemias mundiais de prioridade da OMS. São registrados anualmente cerca de 500 mil casos novos, destes 90% ocorrem em cinco países: Bangladesh, Índia, Nepal, Sudão e Brasil. O cão doméstico é considerado o principal reservatório no ambiente urbano e o responsável pela persistência da doença. **OBJETIVO:** Avaliar a eficácia de estratégia otimizada para triagem e eliminação de cães soropositivos no controle e prevenção da LVH. **MÉTODOS:** Foi realizado um estudo de ensaio comunitário, com crianças entre 6 meses a 12 anos de idade, residentes numa região endêmica para LVH, dividida aleatoriamente em duas áreas: área de intervenção (triagem e eliminação de cães a cada sete meses) e área controle. A população do estudo foi acompanhada por um período de 30 meses. O desfecho principal foi infecção por *Leishmania*, definida como soroconversão por teste imunoenzimático, que era realizado em inquéritos soropidemiológicos a intervalos de 15 meses, aproximadamente. **RESULTADOS:** Foram incluídas inicialmente 1206 crianças. No final do primeiro período (15 meses), após dois ciclos da intervenção, a incidência de soroconversão na área da intervenção não diferiu significativamente da incidência na área controle (RR=1,59; IC 95% 0,85-2,97). No entanto, no final do segundo período (30 meses), depois de quatro ciclos da intervenção, a incidência de soroconversão foi menor na área da intervenção (RR=0,23; IC 95% 0,08 - 0,65). **CONCLUSÃO:** A intervenção não foi eficaz no primeiro período do estudo, mas, no final do segundo período ela reduziu a taxa de soroconversão. Assim, a eficácia da intervenção foi dependente do número de ciclos de triagens realizadas. É possível que as limitações e deficiências dessa estratégia sejam minimizadas com a repetição dos ciclos e que a persistência da intervenção por mais tempo permita que os benefícios se acumulem e sejam alcançados os resultados dessa medida de controle da LVH.

Descritores:

Leishmaniose visceral; Incidência; Controle; Prevenção; Estudo de coorte.

OLIVEIRA, S. O. **Assessment of an optimized strategy for sorting and elimination of dogs at human visceral leishmaniasis control.** Salvador, 2011. 112p. (Doctoral thesis of Biotechnology in Health and Investigative Medicine) – Gonçalo Moniz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Salvador, Bahia.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Human visceral leishmaniasis is within the six worldwide OMS's priority endemic diseases. About 500 thousand new cases are recorded annually around the world, 90% of them in five countries: Bangladesh, India, Nepal, Sudan and Brazil. Domestic dogs are the most important reservoir host at urban area and the cause of HVL persistence.

OBJECTIVE: Measure the efficiency of optimal strategy for screening and elimination of seropositive dogs in HVL control and prevention.

METHODS: a screening study in a HVL endemic area, 1206 children between 6 months and 12 years old were included in this study. They were living in two different areas: area of intervention (dog screening and elimination every seven months) and a control area. The studied population was accompanied for a period of 30 months. The parameter to verify the efficacy of the chosen strategy was the seroconversions detected by ELISA, defined as immunoenzymatic test in seroepidemiologic surveys conducted about every 15 months.

RESULTS: By the end of the first period (15 months), after two intervention cycles the seroconversions incidence at the intervention area wasn't statistically different of the control area. However at the end of second period (30 months), after four intervention cycles, its incidence was lower at the intervention area.

CONCLUSIONS: the intervention wasn't effective on the study first period, but, by the end of the second period it reduced the seroconversion rate. Therefore the intervention efficacious was dependent of the number of screening cycles performed. Possibly, the limitations and deficiencies of this strategy would be minimized by cycle repetition and longer period of intervention, allowing benefits to accumulate and the results for this procedure to be reached.

Keywords:

Leishmaniasis visceral, Incidence, Control, Prevention, Cohort study.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

GRÁFICO 1 – Distribuição dos casos notificados de leishmaniose visceral por região do Brasil (1990/2009)	34
GRÁFICO 2 – Coeficiente de incidência/100.000 habitantes de leishmaniose visceral no Brasil, Região Nordeste e Estado da Bahia (1990/2009)	36
FIGURA 1 - Mapa da cidade de Jequié (Bairros Água Branca e São Judas Tadeu)	44
FIGURA 2 – Cronograma de realização dos inquéritos humanos e intervenção (inquérito canino e eliminação dos cães soropositivos, Jequié (1997/2000)	46
FIGURA 3 – Fluxograma de entrada e saída de crianças participantes da coorte do estudo, Jequié (1997/2000)	55

LISTA DE TABELAS

TABELA - 1. Distribuição (%) das principais características de 1.206 crianças avaliadas na coorte inicial nas áreas de estudo, Jequié, Bahia, 1997	57
TABELA 2 - Distribuição (%) das principais características de 604 domicílios avaliados na coorte inicial nas áreas de estudo, Jequié, Bahia, 1997	59
TABELA 3 – Distribuição de características (%) das crianças acompanhadas na coorte e daquelas sem seguimento no primeiro período do estudo (Dez/97 a Mar/99) de acordo com a área, Jequié, Bahia	61
TABELA 4 – Distribuição de características (%) das crianças acompanhadas na coorte e daquelas sem seguimento no segundo período do estudo (Mar/99 a Jun/00) de acordo com a área, Jequié, Bahia	63
TABELA 5 - Incidência de soroconversão para anticorpos anti-leishmânia na área controle e na área da intervenção por período de observação, Jequié, Bahia, 1997-2000	66
TABELA 6 – Incidência de soroconversão para anticorpos anti-leishmânia nas duas áreas do estudo por período de observação, Jequié, 1997-2000	67

ABREVIATURAS E SIGLAS UTILIZADAS

CPqGM – Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz

DAT – Teste de Aglutinação Direta

DNERu – Departamento Nacional de Endemias Rurais

ELISA – Ensaio Imunoenzimático

FNS - Fundação Nacional de Saúde

IC – Intervalo de Confiança

IDRM – Intradermorreação de Montenegro

IMC – Índice de Massa Corporal

LC – Leishmaniose Canina.

LT – Leishmaniose Tegumentar

LV – Leishmaniose Visceral

LVC – Leishmaniose Visceral Canina

LVH – Leishmaniose Visceral Humana

MS – Ministério da Saúde

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCLV – Programa de Controle da Leishmaniose Visceral

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase

PIEJ - Programa Integrado de Endemias de Jequié

PMJ - Prefeitura Municipal de Jequié

RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta

RR – Razão de Risco

RT-PCR - Reação em Cadeia de Polimerase – Transcriptase Reversa

SESAB - Secretaria de Saúde do Estado da Bahia

SUCAM – Superintendência de Campanha de Saúde Pública

TRALd – Teste Rápido Anticorpo *Leishmania donovani*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Histórico	16
2.2 Agente etiológico	18
2.3 Aspectos clínicos	18
2.4 Diagnóstico	20
2.4.1 <i>Diagnóstico parasitológico</i>	20
2.4.2 <i>Diagnóstico imunológico</i>	20
2.4.3 <i>Diagnóstico molecular</i>	23
2.5 Reservatórios	24
2.6 Vetor	30
2.7 Epidemiologia da Leishmaniose Visceral	32
2.8 Programa de Controle da Leishmaniose Visceral	37
3. JUSTIFICATIVA	40
4. OBJETIVOS	42
4.1 Objetivo geral	42
4.2 Objetivos específicos	42
5. METODOLOGIA	43
5.1 Natureza do estudo	43
5.2 Descrição da área do estudo	43
5.3 População do estudo	45
5.4 Desenho do estudo	45
5.5 Natureza da intervenção	46
5.6 Coleta de dados	47
5.6.1 <i>Inquérito soropidemiológico humano</i>	47
5.6.2 <i>Avaliação sorológica das crianças</i>	48
5.6.3 <i>Avaliação sorológica de cães</i>	50
5.7 Processamento e análises dos dados	51
5.7.1 <i>Entrada e edição dos dados</i>	51
5.7.2 <i>Estatística descritiva</i>	51
5.7.3 <i>Estatística analítica</i>	51

5.8 Considerações éticas	53
6. RESULTADOS	54
6.1 Soroprevalência de anticorpos anti- <i>Leishmania</i>	54
6.2 Fluxograma de participação	54
6.2 Características das crianças e dos domicílios	56
6.3 Densidade de incidência	65
7. DISCUSSÃO	67
8. CONCLUSÕES	75
9. REFERÊNCIAS	76
10. ARTIGO	87
11. APÊNDICES	109
11.1 APÊNDICE A – Questionário	109
11.2 APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido	112

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses compreendem uma das seis endemias mundiais de prioridade da Organização Mundial de Saúde (OMS) devido ao seu caráter endemo-epidêmico, ocupando o segundo lugar em importância mundial entre as moléstias causadas por protozoários e superada apenas pela malária (WHO, 1990; PALATNIK-DE-SOUZA *et al.*, 2001; DESJEUX, 2002; WHO 2002).

A leishmaniose visceral (LV) é uma antropozoonose causada por protozoários do gênero *Leishmania*. No Brasil, o agente etiológico é a *Leishmania chagasi*, espécie semelhante à *Leishmania infantum* (*L. infantum/L. chagasi*) encontrada em alguns países do Mediterrâneo e da Ásia (LAINSON *et al.*, 1987; MAURICIO *et al.*, 2000; GONTIJO & MELO, 2004; LUKES *et al.*, 2007). É transmitida entre os animais e o homem pela picada da fêmea do vetor *Lutzomyia longipalpis*, encontrado tanto em ecótopos naturais como em ambientes rurais e urbanos (SHERLOCK *et al.*, 1984; BRASIL, 2003; BARATA *et al.*, 2005). Os cães e as raposas são os principais reservatórios domésticos e silvestres, respectivamente, sendo o cão responsável pela persistência da doença no ambiente urbano (DEANE & DEANE, 1955; DEANE, 1958, SILVEIRA *et al.*, 1982; SHERLOCK, 1996; ASHFORD *et al.*, 1996; ABRANCHES *et al.*, 1998; ASHFORD, 2003; GONTIJO & MELO, 2004). Interromper o ciclo de transmissão do parasito, teoricamente, seria possível. Todavia, a prevenção de doenças transmissíveis por vetores biológicos é difícil, ainda mais quando associada à existência de reservatórios silvestres e domésticos (GONTIJO & MELO, 2004).

Desde o reinício do Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) em 1982, com a realização de medidas baseadas no diagnóstico e tratamento dos

casos humanos, na redução da população de flebótomos e na identificação e eliminação dos reservatórios animais, particularmente o reservatório doméstico representado pelos cães infectados (BRASIL, 2003), tem sido reportado um aumento significativo na incidência de casos humanos e na letalidade da doença, caracterizando um grande desafio o controle da LV como problema de saúde pública no Brasil.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

As primeiras referências à LV datam de 1882, do relatório sanitário de Assam, na Índia, em que Clarke menciona a ocorrência de uma doença que acometia toda população de várias vilas, conhecida como “kala-azar”, nome hindu que significa “doença negra”, derivado da cor cinzenta da pele das pessoas infectadas (SILVA, 1957; LAINSON, 1997).

Em 1903, quase que simultaneamente, William Leishman e Charles Donovan descrevem o encontro do parasito, de doentes com quadro febril e esplenomegalia, a partir de esfregaço de polpa esplênica. Donovan propôs o nome *Leishmania donovani*, porém coube a Manson e Low a publicação, em 1903, do primeiro caso de calazar ficando, assim, esclarecida a etiologia da leishmaniose visceral humana (LVH) (SILVA,1957). Como a doença foi observada e descrita primeiramente na Índia, o calazar indiano passou a ser considerado a “forma clássica” da doença. Neste país, a doença é endêmica e sujeita a ciclos epidêmicos, atingindo principalmente os grupos etários de 5 a 10 anos e adultos jovens (DEANE, 1956).

Para a *Leishmania* causadora do calazar do Novo Mundo, foi proposto o nome *Leishmania chagasi*, Cunha e Chagas em 1937.

Ao estabelecerem a grande receptividade do cão doméstico ao parasito do calazar, Nicolle e Comte em 1908, sugeriram o potencial papel do cão como reservatório da doença (DEANE, 1956).

Em 1913, a observação de um caso de calazar diagnosticado por necrópsia, em Assunção, Paraguai, mas procedente do estado de Mato Grosso, apontou a possível ocorrência dessa protozoose em nosso país. Com base no trabalho de Penna em 1934 e o achado do parasito em 41 casos diagnosticados, a partir de material de viscerotomia, realizada para verificar a distribuição da febre amarela no Brasil, foi confirmada a doença no continente americano (SILVA, 1957).

Existem algumas hipóteses para explicar a ocorrência do agente etiológico nas Américas (DEANE, 1956; LAINSON & SHAW, 1979): Chagas *et al.* (1937) e Lainson *et al.* (1987), afirmam não ser a *Leishmania* importada de outros continentes e sim autóctone, sugerindo sua existência no neo-trópico muito antes da colonização americana. Sherlock (1969) considera o parasito introduzido durante a colonização da América do Sul. No entanto, mais recentemente, Momen e Cupolillo (2000) propuseram que as espécies do velho mundo teriam origem na África. Para Marzochi e Marzochi (1994), a considerável homogeneidade genética e bioquímica observada entre isolados do parasito de diversas regiões do Brasil, aliadas a similaridade no comportamento clínico da LV do Mediterrâneo, não deixa dúvida sobre a introdução da *Leishmania* no Brasil por meio de cães e/ou humanos durante a colonização européia.

2.2. AGENTE ETIOLÓGICO

A LV é causada por protozoários assexuados, heteróxenos, pertencentes a ordem *Kinetoplastida* e a família *Trypanosomatidae*, agrupados no complexo *donovani* e classificados em 4 espécies: *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum*, *Leishmania archibaldi* e *Leishmania chagasi*. As espécies são diferenciadas por seus vetores e hospedeiros reservatórios (BADARÓ & DUARTE, 1996; LUKES *et al.*, 2007). Pesquisas baseadas em comparações moleculares indicam que a *Leishmania chagasi* e a *Leishmania infantum* são indistinguíveis, sendo consideradas por alguns autores como uma só espécie (MILES *et al.*, 1999; MUTINGA *et al.*, 1989). Portanto, o complexo *donovani* seria composto pela *Leishmania infantum*, que prevalece na Europa, África do Norte, América do Sul e Central e infecta principalmente crianças e indivíduos imunodeprimidos e a *Leishmania donovani*, que prevalece no oriente da África, Índia e parte do Oriente Médio e infecta indivíduos independente de faixa etária (MAURICIO *et al.*, 2000; LUKES *et al.*, 2007). Neste estudo a denominação *L. infantum/L. chagasi* será utilizada como referência para *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi*.

2.3 ASPECTOS CLÍNICOS

Dentre as formas clínicas das leishmanioses, a LV é a forma mais grave da doença, pois, quando não tratada adequadamente, apresenta elevada letalidade. Acomete pessoas de todas as idades, mas na maior parte das áreas endêmicas, 80% dos casos reportados, são de crianças com menos de 10 anos (SILVA *et al.*, 1997; CALDAS *et al.*, 2001; BRASIL, 2003; GONTIJO & MELO, 2004).

A LV caracteriza-se por apresentar um amplo espectro clínico a depender da idade, estado nutricional, fatores genéticos, resposta imune do paciente e cepa do

parasito, variando desde manifestações clínicas discretas (oligossintomáticas) a formas moderadas e graves.

As infecções inaparentes ou assintomáticas são aquelas em que não há evidencia de manifestações clínicas. Os pacientes apresentam sorologia positiva ou presença do parasito nos tecidos sem qualquer manifestação ou sintoma clínico (BRASIL, 2003).

Considerando a evolução clínica, a LV pode ser subdividida em períodos: período inicial, período de estado e período final. O período inicial, também chamado de fase aguda, caracteriza o início da sintomatologia que, na maioria dos casos inclui febre com duração inferior a quatro semanas, palidez cutâneo-mucosa e hepatoesplenomegalia. Em área endêmica, uma pequena proporção de indivíduos, geralmente crianças, pode apresentar um quadro clínico discreto, que geralmente evolui para cura espontânea (forma oligossintomática). A sintomatologia é mais discreta, com febre baixa, palidez cutâneo-mucosa leve, diarreia e/ou tosse não produtiva e pequena hepatoesplenomegalia (BRASIL, 2003).

O período de estado caracteriza-se por febre irregular, geralmente associada a emagrecimento progressivo, palidez cutâneo-mucosa e aumento da hepatoesplenomegalia. Na ausência de diagnóstico e tratamento, a doença evolui progressivamente para o período final, com febre contínua e comprometimento mais intenso do estado geral. Instala-se a desnutrição, edema dos membros inferiores, além de hemorragias, icterícia e ascite (BRASIL, 2003).

Estudos epidemiológicos em áreas endêmicas de LV têm demonstrado que um considerável percentual de indivíduos apresenta evidências de infecção por *L. infantum/L. chagasi*, seja por meio de reações sorológicas ou por testes intradérmicos positivos sem, entretanto, apresentar manifestações clínicas da

doença. A maioria dos infectados desenvolvem doença subclínica, que pode permanecer completamente assintomática ou assumir forma oligossintomática (BADARÓ, 1986; COSTA *et al.*, 1995; CALDAS *et al.*, 2001; NASCIMENTO *et al.*, 2005).

No Brasil, de cada seis indivíduos infectados, um desenvolve a LV, embora em alguns estados essa relação seja bem inferior, como na Bahia que foi de 18:1 e no Ceará, 11:1 (BADARÓ, 1986; BADARO *et al.*, 1986a; EVANS *et al.*, 1992). No Maranhão, a relação infecção/doença foi de 28:1 (CALDAS *et al.*, 2001). Já nos estudos realizados no Quênia esta relação foi de 5:1 (WHO, 1990).

2.4 DIAGNÓSTICO

2.4.1 Diagnóstico parasitológico.

O diagnóstico parasitológico com detecção de formas amastigotas do parasito pode ser feito por punção do baço, fígado, medula óssea e linfonodos. Pode também ser realizado isolamento em meio de cultura ou inoculação em animais de laboratório. Estes métodos mostram 100% de especificidade, mas sua sensibilidade pode sofrer influencia da concentração dos parasitos que não são distribuídos de forma homogênea nos tecidos. O aspirado esplênico é um método altamente sensível para detectar o parasito no homem, mas as dificuldades técnica e operacional para realizar com segurança o procedimento limitam sua utilização (SUNDAR & RAI, 2002).

2.4.2 Diagnóstico imunológico

Os testes mais utilizados no diagnóstico da LVH e leishmaniose visceral canina (LVC) são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o ensaio

imunoenzimático (ELISA) sendo considerado, sobretudo este último, teste de escolha para inquéritos populacionais.

O teste diagnóstico recomendado pelo Ministério da Saúde (MS) para ser utilizado nos inquéritos caninos é a RIFI. Este teste demonstra uma sensibilidade que varia de 90%, e especificidade aproximada de 80% para amostras de soro (PAPPAS *et al.*, 1983) A especificidade deste teste é prejudicada devido à presença de reações cruzadas com outros tripanossomatídeos, como os que causam a doença de Chagas e a leishmaniose tegumentar (LT), além da esquistossomose e malária (COSTA *et al.*, 1991). O teste de ELISA é o mais usado para imunodiagnóstico de LV, permitindo a detecção de baixos títulos de anticorpos. É usado principalmente quando se deseja realizar levantamento soroepidemiológico, sendo também apropriado para o diagnóstico da LVC (BADARÓ *et al.*, 1986b; BRASIL, 2003). A utilização de antígenos recombinantes ou purificados, como as glicoproteínas de membrana gp63, gp72, gp70 e rK39, específicas do gênero *Leishmania*, melhoram a sensibilidade e a especificidade da técnica. O antígeno rK39, quando empregado no ELISA, produziu 100% de especificidade e 98% de sensibilidade. Ele pode ser empregado em pacientes co-infectados com HIV, nos quais as concentrações de anticorpos contra rK39 declinam rapidamente com o sucesso do tratamento (BADARÓ *et al.*, 1996a).

Embora a RIFI seja o teste recomendado para inquéritos caninos, nas atividades de controle, quando realizado em eluato de sangue em papel filtro, apresenta uma sensibilidade muito baixa, quando comparada com ELISA realizada no soro (ASHFORD *et al.*, 1993). Evans *et al.* (1990) encontraram 4,6 vezes mais cães infectados utilizando ELISA no soro que com RIFI no eluato de sangue em papel de filtro. Este resultado foi também encontrado por Braga *et al.* (1998), que

detectaram 2,8 vezes mais cães soropositivos ao utilizarem o teste de ELISA no soro.

O teste de aglutinação direta (DAT) foi descrito pela primeira vez em 1975 e adaptado para o diagnóstico da infecção humana e canina no final da década de 80. Em trabalhos comparativos entre ELISA, RIFI e DAT, este último demonstrou ser igualmente sensível e específico como o ELISA, contudo, pode apresentar problemas na padronização e controle da qualidade do antígeno (EVANS *et al.*, 1990).

A intradermorreação de Montenegro (IDRM) é principalmente utilizada como teste diagnóstico na LT, com sensibilidade variando entre 80 e 100% e especificidade de até 100%. Na LV a IDRM apresenta resultado negativo durante a doença ativa, tornando-se positiva após semanas ou até dois anos do tratamento, por isso é considerada como indicativa de infecção pretérita por *Leishmania* na LV (BORGES *et al.*, 2002).

Um teste imunocromatográfico simples e rápido, baseado na reação do soro ou sangue do paciente, foi desenvolvido utilizando-se o rK39 fixado em papel (Teste Rápido Anticorpo *Leishmania donovani* – TRALd). O teste mostrou 100% de sensibilidade quando aplicado na Índia e 67% no Sudão. No Brasil, quando aplicado em cães de área endêmica, a sensibilidade foi de 92% e a especificidade de 99,5%. Entretanto, o teste não foi capaz de detectar infecção nos animais com títulos de RIFI baixos (1:40 até 1:320). Recentemente, o teste foi modificado sendo acrescido do antígeno recombinante rK26 do complexo *Leishmania donovani*, que também é reconhecido por anticorpos específicos para espécie deste complexo. Na avaliação do novo TRALd, foi observado que indivíduos assintomáticos negativos ao rK39 mostraram-se positivos com o rK26, concluindo-se que o novo TRALd amplia a

sensibilidade do teste (BADARÓ *et al.*, 1996a; GENARO *et al.*, 1997; ZIJLSTRA *et al.*, 2001; TAVARES *et al.*, 2003)

2.4.3 Diagnóstico molecular

A partir da década de 80, várias técnicas de biologia molecular foram desenvolvidas para a detecção e identificação precisa dos parasitos do gênero *Leishmania*, sem necessidade de isolamento do parasito em cultura. Diferentes tipos de amostras biológicas, tais como: aspirados esplênicos, de medula óssea, de linfonodos, sangue total, camada leucocitária, cultura e sangue coletado em papel-filtro, podem ser utilizados como fonte de material para as reações. Métodos de hibridização com sondas específicas e técnicas de amplificação de ácidos nucleicos, incluindo a reação em cadeia da polimerase (PCR) - transcriptase reversa (RT-PCR) para detecção de RNA, e PCR para detecção de DNA, estão disponíveis para identificação do parasito (TAVARES *et al.*, 2003). Estudos têm demonstrado que a soroprevalência subestima o real número de cães infectados. Cães assintomáticos infectados por *Leishmania*, muitas vezes não detectados por sorologia, representam de 50 a 60% de todos os cães na área endêmica (ABRANCHES *et al.*, 1991).

Apesar de ser um método sensível para a detecção de leishmanias em uma variedade de materiais clínicos de cães e de humanos, independente da imunocompetência ou da história clínica do paciente, a PCR é mais usada em estudos epidemiológicos e no monitoramento do tratamento, do que no diagnóstico de rotina. Para utilização em larga escala, a PCR necessita de ajustes para se tornar mais simples e com custo operacional mais baixo.

2.5 RESERVATÓRIOS

Os cães domésticos representam o principal reservatório da LV no ambiente urbano por possuírem grande atratividade para o flebótomo, sendo considerados uma importante fonte de infecção para os vetores. Na maior parte dos estudos sobre epidemias urbanas, tem sido relatada a presença de cães infectados (CABRERA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2005), e, segundo SAVANI *et al.* (2004), a presença de outros cães facilitaria a manutenção da infecção entre esta espécie. Além disso, o cão apresenta uma estreita relação com o homem, tanto em áreas rurais como urbanas.

Um dos fatos que dão ao cão importância como reservatório da *Leishmania* é a riqueza de parasitos na pele aparentemente normal do animal com infecção. O parasitismo sangüíneo é escasso, mesmo nas infecções intensas, porém o parasitismo cutâneo persiste, após o desaparecimento das leishmanias das vísceras (ABRANCHES *et al.*, 1998; DANTAS-TORRES & BRANDAO-FILHO, 2006). Uma alta taxa de cães infectados tem sido encontrada em regiões endêmicas para LVH, com valores que variam em torno de 40%, seja pela pesquisa de anticorpos específicos ou por análise microscópica da presença do parasito em culturas (EVANS *et al.*, 1992; VIEIRA & COELHO, 1998; DANTAS-TORRES, 2007).

A infecção no cão pode ser assintomática, ou produzir doença oligossintomática, em que o animal pode apresentar moderada perda de peso, discretas lesões de pele e linfadenopatia, até a forma clássica da doença. Neste estágio, o cão pode apresentar-se com perda de peso, alopecia e dermatose ulcerativa, crescimento das unhas, linfadenopatia, nefropatia, anemia e trombocitopenia. O diagnóstico clínico é dificultado pelo amplo espectro de sinais

clínicos e pela permanência da doença clinicamente inaparente por longos períodos (CAMARGO & LANGON, 2006; PALATINIK-DE-SOUZA *et al.*, 2001).

Com a introdução de técnicas mais sensíveis, como a detecção de DNA por PCR, um número maior de animais infectados, mesmo sem qualquer sinal da doença, pode ser encontrado, com taxas de positividade de até 80% (ASHFORD *et al.*, 1995; BERRAHAL, *et al.*, 1996). Estes valores reforçam a LVC como sendo um grave problema em Saúde Pública, uma vez que, tanto os animais sintomáticos como os assintomáticos têm papel ativo na transmissão e manutenção em longo prazo da presença do parasito em regiões endêmicas (ABRANCHES *et al.*, 1991).

A OMS não recomenda a quimioterapia para cães infectados usando antimonial pentavalente, uma vez que o tratamento humano e canino é realizado com a mesma droga e isto pode dar origem a parasitos resistentes. Além disso, muitas recaídas foram descritas depois do tratamento. Clinicamente, sinais da doença desaparecem, mas isto não indica a completa ausência de parasitos. Aliás, foi demonstrado que cães podem infectar flebotomíneos vários meses após o tratamento (GRADONI *et al.*, 1987). Segundo Mancianti *et al.* (1988), a taxa global de recuperação de cães naturalmente infectados na Ilha de Elba, Itália, tratados com antimonial pentavalente, foi de 35%. A maior taxa de recuperação foi encontrada em cães que não mostraram sinais de infecção e a mais baixa em cães com graves sinais víscero-cutâneos da doença. Do ponto de vista terapêutico tais achados são consideravelmente menores do que deveria ser esperado de uma droga curativa.

Em 1997, Killick-Kendrick *et al.*, na França, relataram que a utilização da coleira impregnada com inseticida, conseguiu proteger os cães contra 96% das picadas do *Phlebotomus perniciosus* por um período de até oito meses. Esta mesma coleira foi testada por pesquisadores no Ceará, Brasil, obtendo resultados

satisfatórios, tanto ao repelir o inseto quanto ao matá-lo (DAVID *et al.* 2001). A aplicação em muitas comunidades de deltametrina impregnada em colares para cães já tem se mostrado eficaz, não apenas para proteger cães da infecção, mas também para reduzir o risco de infecção em crianças iranianas (GAVGANI *et al.*, 2002; REITHINGER & DAVIES, 2002; REITHINGER *et al.*, 2004). Esta é uma estratégia que deveria ser usada em áreas com elevada transmissão, baseada no conhecimento da variação sazonal da densidade do vetor e também em cães de áreas não endêmicas durante viagens a áreas endêmicas e enzoóticas.

Diversos estudos têm sido conduzidos visando à produção de vacinas para o controle da LVC. Recentemente, a vacina produzida a partir do antígeno fucose manose ligante, presente na superfície do parasito, extraído de promastigotas de *Leishmania donovani*, demonstrou eficácia em dois estudos realizados em área endêmica para ensaio vacinal de fase III (DA SILVA *et al.*, 2001; BORJA-CABRERA *et al.*, 2002). Estes resultados levaram esta vacina para a escala comercial, a partir de 2004, com o nome de Leishmune, após aprovação pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. O MS expressou que ainda não foram realizados estudos com relação ao impacto na incidência humana e canina, assim como estudos de custo/efetividade e custo/benefício. Também não foi demonstrado como distinguir os anticorpos desenvolvidos devido à infecção natural daqueles desenvolvidos devido à vacinação. Assim, a vacina não foi aprovada para ser utilizada como medida de controle da LV no Brasil (GONTIJO & MELO, 2004; DANTAS-TORRES & BRANDAO-FILHO, 2006).

A raposa também tem sido incriminada como o reservatório primário da infecção por *L. infantum*/*L. chagasi* no Brasil e Venezuela (DEANE, 1956; LAINSON *et al.*, 1987), sendo considerada o principal reservatório no ambiente silvestre

(ALENCAR, 1956). Duas espécies de raposas foram encontradas naturalmente infectadas: *Lycalopex vetulus* no Ceará (DEANE, 1956), e *Cerdocyus thous* no Pará (LAINSON *et al.*, 1990) e em Minas Gerais (SILVA, 1999). Deane (1961) fez referência que as raposas parasitadas podem ser uma importante fonte de infecção por serem encontradas nos focos de LVH e LVC e por apresentarem intenso parasitismo cutâneo. Os marsupiais, principalmente sariguês (*Didelphis albiventris* e *Didelphis marsupialis*), têm sido incriminados como reservatórios do parasito e foram encontrados naturalmente infectados pela *L. infantum/L. chagasi* no Brasil (SHERLOCK *et al.*, 1984; SHERLOCK, 1996a), bem como *Didelphis marsupialis* na Colômbia (CORREDOR *et al.*, 1989; TRAVI *et al.*, 1994) e Venezuela (ZULUETA *et al.*, 1999).

Sherlock *et al.* (1984), em experimento realizado em Jacobina, Bahia, encontraram um *Didelphis albiventris* naturalmente infectado por *Leishmania donovani*, de 57 examinados. Já em 1996, também em Jacobina, Sherlock (1996) encontrou cerca de 4% de sariguês infectados com três espécies de *Leishmania*: *L. infantum/L. chagasi*, *Leishmania amazonensis* e *Leishmania braziliensis*. Os animais infectados com *L. infantum/L. chagasi* não apresentavam, ao exame histopatológico, lesões evolutivas típicas da doença, no entanto, em duas casas próximas do local onde um dos animais foi capturado, foram registrados casos humanos e caninos de LV. Cabrera *et al.* (2003) em Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, encontrou uma prevalência de infecção de 29% nos sariguês capturados, porém, em nenhum deles foi observado sinal clínico da doença, cultura ou esfregaço positivo. No entanto, formas amastigotas foram encontradas no baço, fígado e medula óssea de hamster, 90 dias após inoculação de parasitos isolados dos sariguês. Semelhantemente, em um estudo realizado na Colômbia por Corredor *et al.* (1989), 32,4% dos *Didelphis*

marsupialis capturados encontravam-se infectados.

Apesar do encontro do gato doméstico parasitado uma vez na Argélia, outros investigadores não conseguiram infectar experimentalmente esse animal (SERGENT et al., 1912). Kirkpatrick *et al.* (1984), ao inocularem experimentalmente felinos com *L. infantum/L. chagasi* e *Leishmania donovani*, não detectaram nenhum sinal clínico da doença ou presença do parasito nas vísceras dos animais após necropsia, mas eles desenvolveram elevados títulos de anticorpos contra *Leishmania*. Bresciani *et al.* (2010), ao avaliarem a presença de anticorpos contra *Leishmania* e pesquisa do parasito em fragmentos de linfonodos de gatos, detectaram positividade de 0,7% apenas no exame parasitológico, sugerindo que este hospedeiro não assume importância epidemiológica na região. Assim, o gato não é considerado um hospedeiro usual para infecção e apenas casos esporádicos de leishmaniose felina são reportados, a maioria em países onde a doença é endêmica, já que a preferência alimentar dos flebotomos também inclui gatos (PENNISI, 2002).

Em relação aos demais possíveis reservatórios, como suínos, bovinos, eqüinos e caprinos, há poucos relatos a respeito. Estudos realizados na área endêmica de Jequié e Jacobina, por Cerqueira *et al.* (2001), demonstraram que eqüídeos apresentaram alta prevalência de soropositividade aos testes ELISA, TRALd e PCR, indicando a presença de anticorpos específicos contra *Leishmania* e a existência de infecção nestes animais.

Estudos realizados em suínos por Moraes-Silva *et al.* (2006) na região de Jequié, Bahia, demonstraram alta soroprevalência dos animais examinados. No entanto, não houve êxito no isolamento de *Leishmania*. Brazil *et al.* (1987) referem também a descoberta de numerosas formas amastigotas intracelulares em um esfregaço de biópsia de lesão de pele de um porco, no entanto eles não

conseguiram isolar e identificar o microorganismo. Estes dados sugerem a importância do suíno na atração do vetor, tanto como fonte de alimentação como por proporcionar condições favoráveis a sua proliferação nas proximidades das habitações humanas.

Existem alguns registros de infecção natural em roedores domésticos e silvestres. Gradoni *et al.* (1983) sugerem que o *Rattus rattus* (rato preto), apesar de serem animais bastante resistentes ao parasito, podem ser reservatórios da infecção. Na Itália, o rato doméstico *Rattus rattus* é fortemente suspeito como reservatório secundário da *Leishmania infantum* e importante reservatório no Oriente Médio. Em um estudo realizado na Venezuela, De Lima *et al.* (2002) sugerem que o rato preto é um potencial reservatório de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania mexicana*. Alencar *et al.* (1960) também identificaram ratos naturalmente infectados, provavelmente com *Leishmania braziliensis* em uma zona endêmica para LT no Ceará. Registros de infecção natural foram também feitos para rato espinho (*Proechimys canicollis*) na Colômbia (CORREDOR *et al.*, 1989).

Segundo Sherlock (1996), o papel do ser humano como reservatório parece ser insignificante, exceto quando ocorrem surtos epidêmicos da doença. Também para Ashford *et al.* (1996), o homem não representa um reservatório significativo para a doença, sendo considerado um hospedeiro acidental. Entretanto, segundo Deane (1961), não se pode desprezar o ser humano como fonte de infecção. Em estudos realizados no Ceará, 28,5% dos pacientes humanos infectaram os flebotomos por xenodiagnóstico. Em estudos realizados na Costa Rica, Amazônia e Maranhão, os seres humanos foram um dos hospedeiros mais escolhidos para a alimentação das fêmeas dos flebotomos, demonstrando o grau de antropofilia do

Lutzomyia longipalpis (ZELEDON *et al.*, 1984; QUINNELL *et al.*, 1992; PASSOS DIAS *et al.*, 2003).

2.6 VETOR

O principal vetor da *L. infantum/L. chagasi* no Brasil é o *Lutzomyia longipalpis*, popularmente conhecido como mosquito palha, asa branca e cangalhinha (MORRISON *et al.*, 1993), pertencente a família Psychodidae. Todas as espécies da America Latina são descritas como silvestres, mas, o *Lutzomyia longipalpis* adaptou-se ao habitat doméstico e peridoméstico, onde as condições climáticas e a abundância de alimento favorecem o aumento de sua densidade populacional (MORRISON *et al.*, 1993; PALATNIK-DE-SOUZA *et al.* 2001).

Estudos têm revelado a ocorrência de outros possíveis vetores como o *Lutzomyia migonei* e o *Lutzomyia complexa* em Pernambuco (CARVALHO *et al.*, 2007), *Lutzomyia cruzi* em áreas do Mato Grosso do Sul e Corumbá (SANTOS *et al.*, 1998; DESJEUX, 2004) e *Lutzomyia firmatoi* em municípios do Estado do Rio de Janeiro (SOUZA *et al.*, 2003).

Segundo Killick-Kendric e Killick-Kendrick (1999), pouco se conhece a respeito da biologia dos flebótomos quando comparados a outros mosquitos vetores. Em 1956, Deane relatou o encontro de estágios imaturos do flebótomo desenvolvendo-se em micro-ambientes terrestres ricos em matéria orgânica, como em torno de troncos e cavidades de árvores, gruta de pedra, em tocas e currais de animais. As características comuns de tais abrigos são: obscuridade, umidade relativamente elevada, temperatura mais baixa que no exterior e ausência de

correntes de ar. Estes achados coincidem com os encontrados por FERRO *et al.* (1997), em estudos realizados na Colômbia.

Estudos revelam que os flebótomos são capazes de se movimentar por distâncias relativamente longas, de 500 a 700 metros, em curto período de tempo. Entretanto, se não houver fatores que estimulem ou promovam uma maior dispersão destes insetos para outros locais, a média de deslocamento é inferior a 100 metros (CHANIOTIS *et al.*, 1974; ALEXANDER, 1987; DYE *et al.*, 1991; MORRISON *et al.*, 1995).

Deane (1956), no Ceará, detectou uma grande proporção de fêmeas capturadas sugando o homem, quando comparado a outros animais (cão, raposa, boi, cavalo, porco, gato galinha), o que denota certo grau de antropofilismo do vetor. Quinnell *et al.* (1992), em um estudo realizado na Amazônia, demonstraram que o flebótomo possui hábitos alimentares bastante variáveis, sem caracterizar uma preferência por um hospedeiro específico. Semelhantemente, Zeledón *et al.* (1984), em um estudo feito na Costa Rica, relataram que não houve uma preferência dos flebótomos aos animais expostos. A quantidade de insetos capturados variou de um mês para o outro e estava mais relacionada à presença de corrente de ar e à quietude do animal no momento da captura. Já Morrison *et al.* (1993), em um estudo realizado na Colômbia, indicaram que vacas e porcos foram as fontes alimentares preferidos do *Lutzomyia longipalpis*. Também Aguiar *et al.* (1987), no Rio de Janeiro, relatam que uma galinha atraiu dez vezes mais flebótomos que um homem, ou um cão, ou um burro.

A atividade dos flebotomíneos ocorre principalmente no período compreendido entre o crepúsculo e o anoitecer, provavelmente devido à queda de temperatura e aumento da umidade com maior intensidade entre às 21 e 23 horas

(SHERLOCK, 1996a). À noite, os flebótomos são mais abundantes nas proximidades das janelas e portas e, mais tarde, nos quartos de dormir. Durante o dia, eles podem ser capturados, principalmente, nos dormitórios ou em alguma dependência mais escura e úmida, como os depósitos, abrigos de animais e rochas (DEANE, 1956; KILLICK-KENDRICK & KILLICK-KENDRICK, 1999).

2.7 EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL

As leishmanioses estão presentes em áreas tropicais e subtropicais de aproximadamente 90 países do mundo, distribuídos em quatro continentes (Américas, África, Ásia e Europa). No Velho Mundo, a LV ocorre em algumas partes da Ásia, Oriente Médio, África (especialmente Oriente e África do Norte), e Sul da Europa. Nas Américas, a LV ocorre do norte do México ao norte da Argentina, espalhada nos vários países deste continente. Dos casos de LV registrados no mundo, 90% ocorrem em áreas rurais e na periferia de cidades em cinco países: Bangladesh, Índia, Nepal, Sudão e Brasil. Estima-se que existam 12 milhões de pessoas infectadas e aproximadamente dois milhões de casos novos por ano em todo o mundo. Destes, 1,5 milhões são de LT e 500 mil casos com 59.000 óbitos de LV (WHO, 1990; DESJEUX, 2002; PALATNIK-DE-SOUZA *et al.*, 2001; WHO, 2002; GONTIJO & MELO, 2004; DANTAS-TORRES & BRANDÃO-FILHO, 2006)

Na década de 70, a urbanização da doença foi intensificada e, no começo da década de 80, a doença não só surgiu como autóctone em alguns estados do Sudeste, Sul e Centro-Oeste do País, como ressurgiu com importância em várias cidades do Nordeste e Norte, predominando nas áreas periurbanas (BRASIL, 1996; VIEIRA & COELHO, 1998).

A endemia continuou se expandindo na década de 90, haja vista sua ocorrência na região de Corumbá (MS), na região de Santarém (PA) e em Roraima (RR), atingindo inclusive o Território Yanomami (VIEIRA & COELHO, 1998), além de epidemias em áreas urbanas como Belo Horizonte (MG), Feira de Santana (BA), Várzea Grande (MT), Araçatuba (SP) Aquidauana (MS). Nesta década, foram notificados a cada ano, cerca de três mil novos casos humanos em 18 (67%) estados brasileiros, dos quais 89% provenientes da região nordeste (TESH, 1995; NASCIMENTO *et al.*,1996; MILES *et al.*,1999, OLIVEIRA & ARAUJO, 2003; SINAN 2010).

A partir de 2000, casos humanos foram relatados em novas áreas urbanas: municípios de Palmas (TO), Três Lagoas e Campo Grande (MS), Bauru (SP), Paracatu (MG) e Cametá (PR) (MARZOCHI *et al.*, 1985; COSTA *et al.*,1995; OLIVEIRA *et al.*,1998; ALVES & BEVILACQUA, 2004; BARATA *et al.*, 2005). Até 2009, casos de LV foram notificados em 21 (78%) dos 27 estados brasileiros, inclusive em localidades onde até 1999 não havia registros, como o estado do Rio Grande do Sul e o Distrito Federal (SINAN, 2010).

Ao longo da série histórica de casos de LV, as regiões sudeste, norte e centro-oeste apresentaram 5,0%, 4,8% e 1,4% deste agravo entre 1990 a 1999, respectivamente. Já para o período de 2000 a 2009, a ocorrência de casos de LV foi ampliada para 16,7%, 16,6% e 7,2%, respectivamente (GRÁFICO 1).

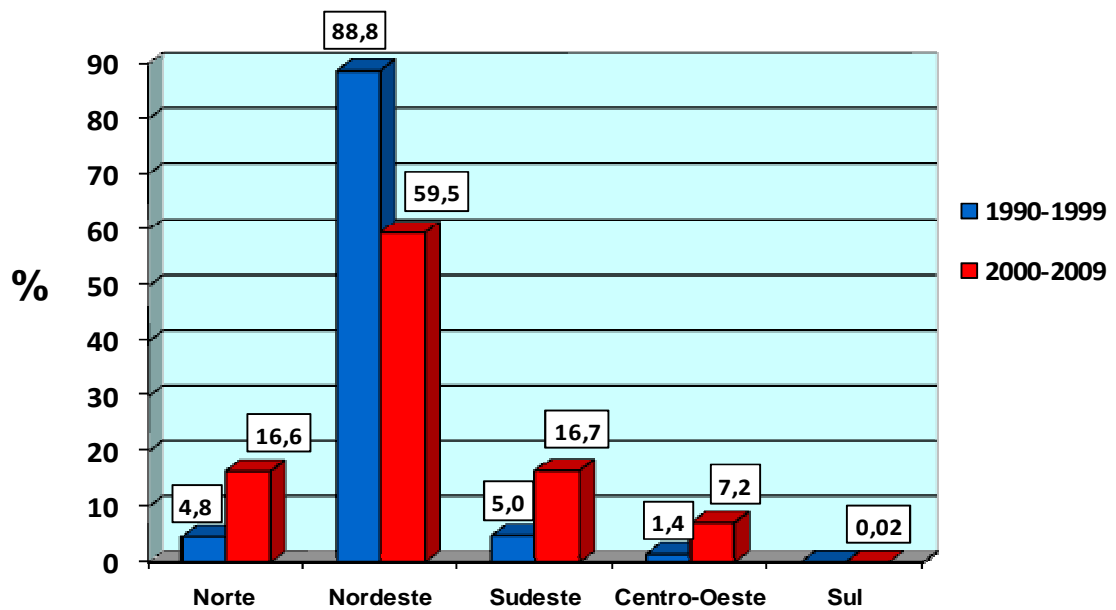


GRÁFICO 1 – Distribuição do número de casos notificados de leishmaniose visceral por região do Brasil – 1990 a 2009.

Observa-se assim, a emergência e reemergência da doença no Brasil, com a notificação de casos nas áreas onde ocorria tradicionalmente e expansão para os estados ao sul do país. Na década de 90, a região Nordeste notificou 88,8% dos casos no Brasil. Entretanto, de 2000 a 2009, passou a representar 59,5% dos casos notificados. Essa redução deve-se ao aumento do número de casos reportados em outras regiões do país, caracterizando uma expansão da área tradicional de ocorrência dessa doença com destaque para alguns estados como Pará e Tocantins na região norte, São Paulo na região sudeste e Mato Grosso do Sul no centro-oeste do país.

O estado da Bahia destacou-se entre os focos endêmicos mais importantes desde a década de 50, passando a ser o responsável pela notificação do maior número de casos humanos de LV da região nordeste, na década de 90. De 2000 a 2009 a região nordeste continua sendo a que concentra o maior número de casos

notificados da doença no Brasil (58,8%), principalmente nos estados do Maranhão (27,8%), Ceará (20,4%), Bahia (18,7%) e Piauí (12%). e a mais alta taxa de letalidade (53,5%), seguida da região sudeste (23,6%), norte (11,9%) e centro-oeste (10,7%) (SINAN, 2010).

A distribuição geográfica da doença na Bahia é ampla, com maior concentração na região central do Estado, particularmente em Irecê, Chapada Diamantina e Jequié. Na última década, verificou-se expansão para o oeste, norte e nordeste do estado, além da ocorrência de casos em regiões litorâneas como Camaçari, Conde e, mais recentemente, Entre Rios e Salinas das Margaridas representando um padrão diverso do classicamente descrito (MAGALHÃES, 2010). O relato de casos nos municípios de Santo Antônio de Jesus e Itapetinga pode estar indicando uma expansão para o sul do Estado, área tradicionalmente indene para a doença, porém endêmica para LT (BAHIA, 1999).

A tendência histórica da LV variar em ciclos quinquenais pode ser evidenciada pela elevação da incidência de casos notificados a cada período médio de cinco anos no Brasil (GRÁFICO 2).

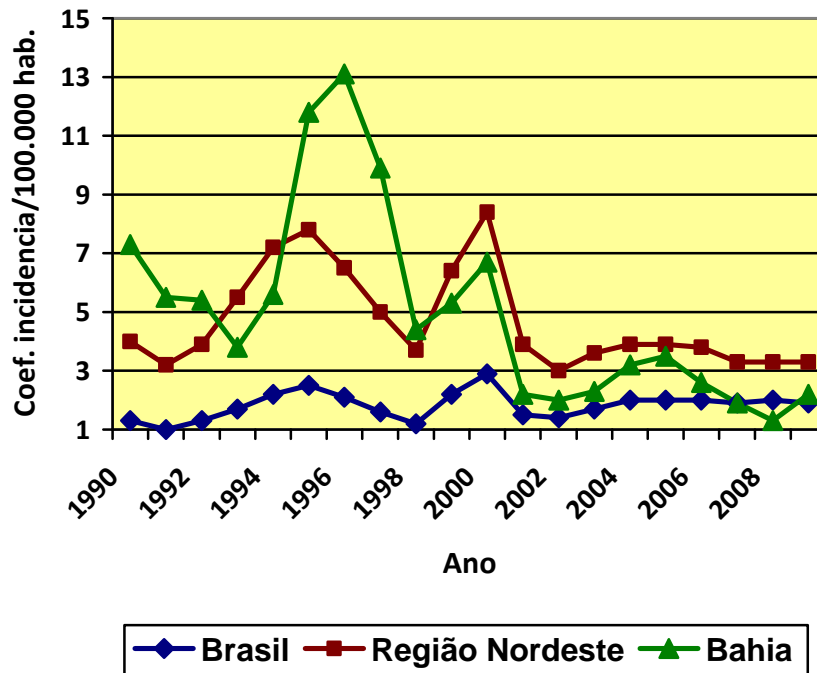


GRÁFICO 2 – Coeficiente de incidência/100.000 hab. de leishmaniose visceral no Brasil, Região Nordeste e Estado da Bahia – 1990 a 2009

O município de Jequié representa uma importante área endêmica para LV e responde por mais de 10% dos casos de LV da Bahia. Entre 1989 e 1991, foram notificados 183 casos da doença. Em 1991 foi implantado o PCLV pelo MS e um serviço de referência – Programa Integrado de Endemias de Jequié (PIEJ). No período de 1992 a 1996 foram registrados 257 casos de LV e 18 óbitos. Cerca de 75% dos casos ocorreu em crianças com menos de 6 anos de idade e a alta letalidade da doença (10 a 30%) neste grupo etário tornou o problema ainda mais grave.

2. 8 PROGRAMA DE CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL

Em 1953, foi criada pelo Governo Federal a "Campanha Contra a Leishmaniose Visceral" subordinada ao Departamento Nacional de Saúde do Ministério de Educação e Saúde. As atividades de controle, posteriormente, passaram a ser realizada pelo Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu) (DEANE, 1956, ALENCAR, 1983; VIEIRA & COELHO, 1998). Todo conhecimento a respeito da transmissão da doença era resultante de experiências de outros países, em especial Índia e China.

Estudos pioneiros sobre o ciclo de transmissão da doença no Brasil foram empreendidos no Ceará e culminaram com a incriminação da raposa *Lycalopex vetulus* como reservatório silvestre, na associação da presença do flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* com o surgimento dos casos humanos, na confirmação do papel do cão como reservatório doméstico de maior importância e na recomendação do emprego de inseticidas residuais para o controle do vetor (DEANE, 1956; MONTEIRO *et al.*, 1994).

Estratégias que envolviam tentativas de controle dos elos vulneráveis da cadeia de transmissão foram empregadas em algumas áreas do país, como o estado do Ceará, o município de Jacobina na Bahia e o Vale do Rio Doce em Minas Gerais. Durante a década de 60, as ações foram interrompidas e só em 1982, o programa foi retomado, quando a Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) detectou um aumento do número de casos de LV no Brasil e implementou o PCLV (MONTEIRO *et al.*, 1994). Este período de paralisação das atividades pode ter levado não só o aumento do número de casos, como também a expansão da doença e a ocorrência de casos nas áreas periféricas das grandes cidades brasileiras.

As medidas de controle do programa tem como base os elementos do ciclo epidemiológico da doença: (i) diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos; (ii) triagem e eliminação dos reservatórios caninos soropositivos; e (iii) borrifação residual nos domicílios e peridomicílios. Foram aliadas a estas estratégias, atividades de educação em saúde e comunicação com a população (BRASIL, 1996).

Embora a primeira medida se justifique por si mesma, o tratamento dos casos humanos não tem muito impacto no controle da LVH, uma vez que se trata de uma zoonose. O combate aos flebótomos, por sua vez, poderia levar ao controle da LVH. Entretanto, a bioecologia do flebótomo, com locais de oviposição ubíquos torna-o especialmente difícil de combater, restringindo as ações de borrifação à redução da população adulta do vetor, além da necessidade de repetir a aplicação de inseticidas periodicamente, elevando o custo da ação, podendo levar o surgimento de resistência, sem mencionar o impacto destes produtos no meio ambiente (FERRO *et al.*, 1997, KILLICK-KENDRICK & KILLICK-KENDRICK, 1999; ALEXANDER & MAROLI, 2003). A presença de cães infectados tem sido relatada na maior parte dos estudos sobre epidemias urbanas e a sua presença facilitaria a manutenção da infecção entre esta espécie, além de aumentar ainda mais o risco de contaminação do homem. Em algumas áreas, foi possível observar que a LVC precedeu o aparecimento da doença humana (CAMARGO & LANGONI, 2006), fazendo com que o cão seja considerado o principal reservatório e o responsável pela persistência da doença (ABRANCHES *et al.*, 1998).

Diante da estruturação do Sistema Único de Saúde (SUS) as medidas do PCLV passaram a ser desenvolvidas pela Fundação Nacional de Saúde (FNS) que buscou instrumentalizar os estados e municípios para assumir as ações de controle da doença. Vale ressaltar que estas ações envolvem atividades dispendiosas e

exigem pessoal qualificado para tarefas específicas, como de diagnóstico canino e humano e borrifação residual dos domicílios. A transferência da responsabilidade para os estados e municípios deu-se de forma lenta e gradual, ao tempo em que pode ter comprometido tanto a realização como a continuidade das medidas de controle do programa, haja vista a expansão geográfica e o aumento na incidência e letalidade da doença, bem como epidemias em áreas urbanas.

Vários estudos de intervenção e de avaliação das medidas de controle do PCLV no Brasil foram realizados nos últimos 20 anos (MAGALHÃES *et al.*, 1980; DIETZE *et al.*, 1997; ASHFORD *et al.*, 1998; OLIVEIRA & ARAÚJO, 2003; COSTA *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008; NUNES *et al.*, 2010). A maior parte dos resultados são baseados em conclusões frágeis e contraditórias provenientes do próprio desenho dos estudos, que não foram adequadamente projetados e realizados dentro de limites metodológicos e operacionais. Apesar de não haver unanimidade entre os profissionais sobre a importância da LVC na LVH, a maioria dos estudos realizados aponta nessa direção.

3. JUSTIFICATIVA

A LV está entre as endemias consideradas de controle prioritário no mundo e tem apresentado mudanças importantes no padrão de transmissão, inicialmente determinadas pelas características de ambientes silvestres e rurais. O Brasil destaca-se com o maior número de casos reportados nas Américas, onde sua importância não reside somente na alta incidência e ampla distribuição geográfica, mas também na elevada letalidade e expansão para áreas indenes, principalmente na última década. Inúmeros fatores epidemiológicos, socioeconômicos e ecológicos interferem e podem reduzir o impacto das ações dos programas de controle da doença. Atualmente, deve-se considerar também a co-infecção *L. infantum/L. chagasi*/HIV como um desafio importante e relativamente novo para a saúde pública em muitos países, incluindo o Brasil.

As relações entre os componentes da cadeia de transmissão no cenário urbano parecem ser mais complexas e variadas do que no meio rural e colocam em pauta a discussão das estratégias de controle empregadas. Apesar do número elevado de pesquisas sobre os diferentes aspectos da LV e do conhecimento de características importantes da doença, questões cruciais para o seu controle ainda permanecem sem resposta definitiva (CORREDOR, 1989; TESH, 1995; DESJEUX, 2002; GONTIJO & MELO, 2004; MESTRE & FONTES, 2007). Quais os principais fatores de risco para a população? Como avaliar as intervenções de controle e antecipar epidemias? Por que as medidas de controle não tem sido capazes de impedir a expansão e o aumento da incidência da LV? Mais ainda, o insucesso dos atuais métodos de prevenção/controla sugere a necessidade de novos métodos e/ou a revisão das estratégias em uso corrente.

O programa de prevenção/controle de LV desenvolvido no Brasil tem apresentado resultados inconsistentes. Programas de triagem sorológica e eliminação de cães positivos têm avaliado milhares de animais anualmente nas áreas endêmicas de LV, contudo, a eficácia desta medida continua altamente questionável no controle da doença. Apesar da plausibilidade biológica desta medida, existem poucos ensaios de campo que comprovem a adequação desta intervenção.

Portanto, urge que busquemos elucidar o impacto de estratégias onerosas e trabalhosas, como a triagem e eliminação de cães, na incidência de casos de LV na população humana. A partir de um estudo finalizado em 2000, na área endêmica de Jequié, Bahia, Estudo Epidemiológico da Leishmaniose Visceral, propõe-se analisar a eficácia de estratégia otimizada para eliminação de cães soropositivos no controle e prevenção da LVH através de um ensaio comunitário em uma área urbana endêmica do estado da Bahia.

4. OBJETIVOS

4.1 GERAL

Avaliar a eficácia de estratégia otimizada para triagem e eliminação de cães soropositivos no controle e prevenção da leishmaniose visceral humana, através de ensaio comunitário em uma área urbana.

4.2 ESPECÍFICOS

4.2.1 Determinar as taxas de incidência da infecção por *Leishmania* na área controle e na área de intervenção por ano/período;

4.2.2 Comparar a incidência de infecção por *Leishmania* na área controle e na da intervenção por ano/período, estimando medidas de risco relativo simples e ajustado.

5. METODOLOGIA

5.1 NATUREZA DO ESTUDO

Trata-se de um ensaio comunitário em uma coorte de crianças residentes em dois bairros em uma área endêmica para LV do município de Jequié-Bahia, no período de dezembro de 1997 a junho de 2000.

5.2 DESCRIÇÃO DA ÁREA DO ESTUDO

O estudo foi realizado no município de Jequié, Bahia, originário da sesmaria do capitão-mor João Gonçalves da Costa, que sediava a fazenda Borda da Mata, vendida a José de Sá Bittencourt, refugiado na Bahia após o fracasso da Inconfidência Mineira. Com sua morte em 1789, a fazenda foi dividida entre os herdeiros em vários lotes, um deles foi chamado Jequié e Barra de Jequié. Em pouco tempo, Jequié tornou-se distrito de Maracás, e dele se desmembrou em 1897 tornando-se cidade a partir de 1910. Como importante centro de comércio, a cidade cresceu linearmente as margens do Rio de Contas, desenvolvendo-se em direção as partes mais altas, sendo considerada já em 1927 a quarta cidade mais importante da Bahia.

O município abrange uma área de 3.035,423 km² e a cidade está localizada a 13°51'28"S e 40°05'02"O, a 112 km do Oceano Atlântico e a 215 metros de altitude, a 365 km de Salvador, no sudoeste da Bahia, na zona limítrofe entre a caatinga e a zona da mata. Encontra-se em região de clima semi-árido, com temperatura média de 24°C e 500 mm de índice pluviométrico anual. A vegetação natural é predominantemente constituída de pequenas árvores decíduas, arbustos, cactos e gramíneas. Contudo, algumas áreas rurais são cobertas por floresta tropical ou floresta secundária e mata subtropical com índice pluviométrico entre 700 a 1000

mm anuais. De acordo com o censo nacional, Jequié possui com uma população de 151.921 habitantes (IBGE, 2010), dos quais 91,8% residem em área urbana.

O município possui nove distritos além da sede, e a cidade está dividida em bairros, entre eles os bairros Água Branca e São Judas Tadeu-Mutirão, selecionados para este estudo por apresentarem ampla presença do vetor *Lu. Longipalpis* e elevada prevalência de LV humana e canina, além de terem uma localização isolada e de fácil delimitação na periferia da cidade (PARANHOS-SILVA *et al.*, 1996) (FIGURA 1).

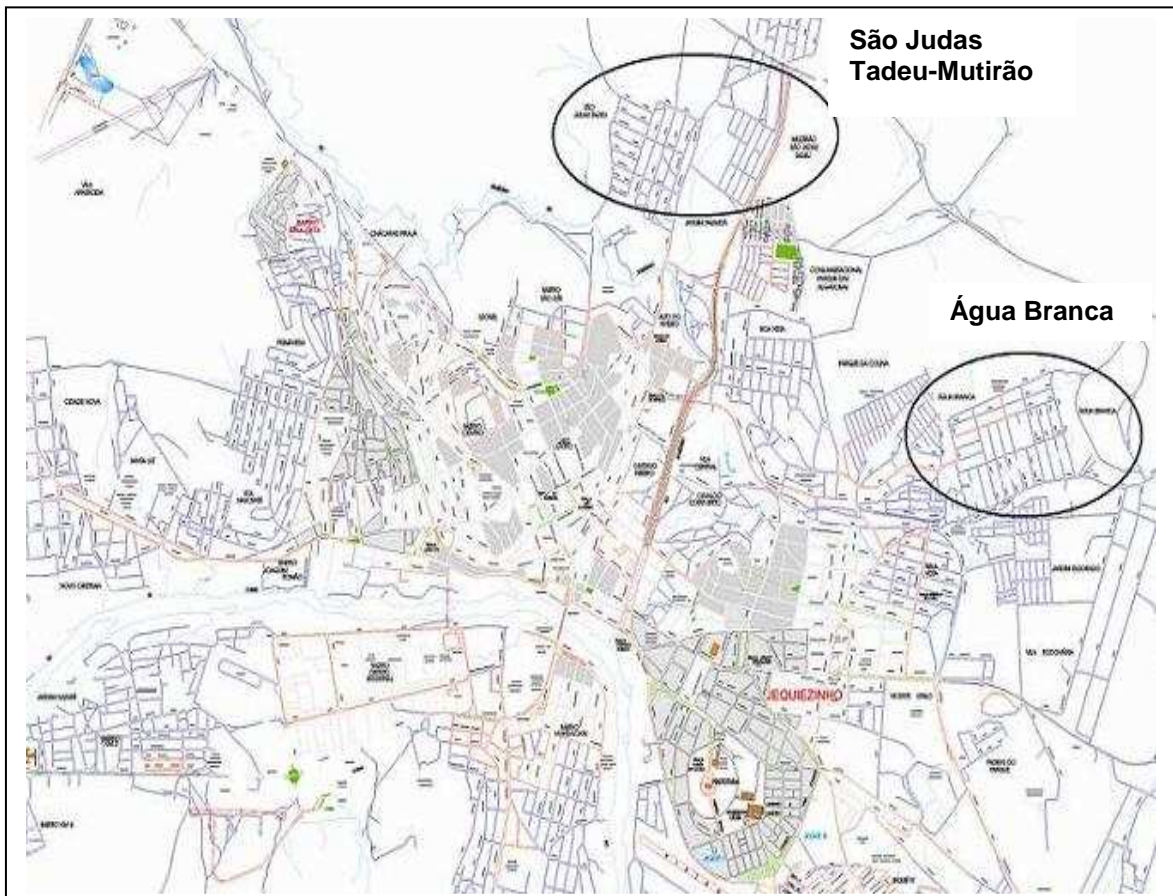


FIGURA 1 – Mapa da cidade de Jequié (Bairros Água Branca e São Judas Tadeu-Mutirão)

As atividades do estudo foram desenvolvidas no Centro de Referência em Doenças Endêmicas Pirajá da Silva - Programa Integrado de Endemias de Jequié (PIEJ), com a participação do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz, Bahia (CPqGM-FIOCRUZ-BA), da Fundação Nacional de Saúde (FNS), da Secretaria de Saúde do Estado da Bahia (SESAB) e da Prefeitura Municipal de Jequié (PMJ).

5.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Após esclarecimentos quanto à natureza e às finalidades do estudo, foram admitidos todos os residentes das áreas selecionadas com idade entre 6 meses e 12 anos, com teste negativo para a presença de anticorpos contra *Leishmania*. A amostra assim obtida constituiu a coorte inicial e foi acompanhada nas duas áreas do estudo, prospectivamente.

5.4 DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo de ensaio comunitário, onde os bairros escolhidos, São Judas Tadeu-Mutirão e Água Branca, foram classificados por sorteio em: área da intervenção (triagem e eliminação de cães) e área controle, respectivamente. O evento de interesse (ou desfecho principal) foi infecção recente por *Leishmania*, identificada através da soroconversão pelo teste ELISA.

Na avaliação inicial, realizada por meio de um inquérito de corte transversal, os indivíduos foram classificados em soronegativos (não infectados) e soropositivos (infectados) para levantamento da prevalência de infecção por leishmânia. As crianças soronegativas, nesta primeira avaliação, foram incluídas no estudo e

acompanhadas nas duas áreas, em mais dois inquéritos soropidemiológicos realizados a intervalos de 15 meses, aproximadamente.

As intervenções foram realizadas a cada 7 meses aproximadamente. Enquanto no bairro controle, Água Branca, foi realizado apenas o seguimento da população humana no mesmo período (FIGURA 2).

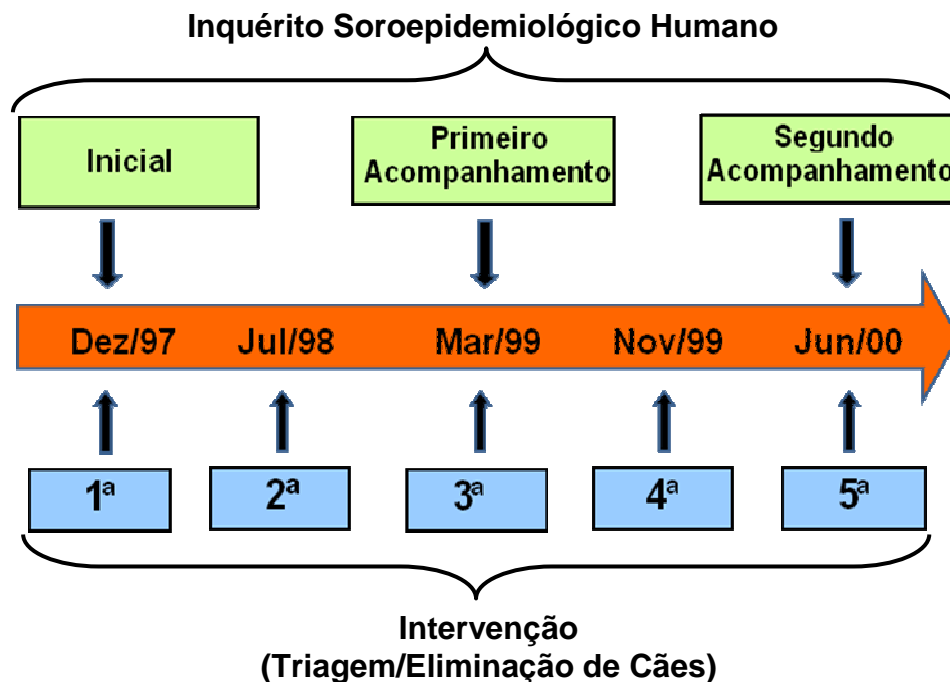


FIGURA 2 - Cronograma de realização dos inquéritos humanos e intervenção (inquérito canino e eliminação de cães soropositivos), Jequié, 1997-2000

5.5 NATUREZA DA INTERVENÇÃO

A intervenção consistiu na triagem sorológica da população canina total no bairro de São JudasTadeu-Mutirão e subsequente eliminação dos cães positivos. A fim de minorar algumas das limitações freqüentemente encontradas neste tipo de estratégia de prevenção, as seguintes medidas foram adotadas para otimizar a

intervenção: (i) substituição do teste de triagem de cães (em vez da técnica de imunofluorescência indireta feita em eluato de sangue coletado em papel de filtro - associada a baixas taxas de sensibilidade - foi utilizado o teste imunoenzimático em soro separado de amostra de sangue total); (ii) redução do tempo entre a realização do teste de triagem e a remoção dos cães soropositivos para 14 dias no máximo; (iii) elevação das taxas de cobertura dos inquéritos da população canina.

5.6 COLETA DE DADOS

5.6.1 Inquérito soropidemiológico humano

Utilizou-se um questionário estruturado para a coleta de informações demográficas, sócio-econômicas e de infra-estrutura sanitária e ambiental, antecedentes médicos, migração recente e outros fatores de risco para leishmaniose. O questionário foi testado e validado em um projeto piloto e as modificações sugeridas durante esse processo de validação foram incorporadas à versão final do instrumento. Em seguida, o questionário foi pré-codificado para facilitar a entrada de dados (APÊNDICE B). Os entrevistadores foram treinados pela equipe que desenvolveu o instrumento, com supervisão e reavaliações periódicas ao longo do período de coleta de informações.

Em adição aos dados clínico-demográficos, foram coletadas, de todos participantes, medidas antropométricas (peso e altura) para computação de indicadores nutricionais (VANNUCCHI *et al.*, 1996). As crianças maiores de um ano de idade foram pesadas em balança digital, com capacidade para 150 kg e precisão de 0,1 kg e tiveram sua altura mensurada com estadiômetro de parede. As crianças menores de um ano foram pesadas em balança pediátrica mecânica, com capacidade para 16 kg e precisão de 10 g e foram medidas em decúbito dorsal,

utilizando-se estadiômetro infantil. Ambos estadiômetros tinham precisão de 0,1 cm. Os técnicos de enfermagem foram treinados pela equipe para realização das medidas de acordo com as recomendações do Programa de Vigilância Nutricional (BRASIL, 2004; BARBOSA *et al.*, 2009).

Os indicadores nutricionais utilizados nas crianças com menos de 10 anos de idade foram: razão peso por idade (P/I), razão peso por estatura (P/E) e razão estatura por idade (E/I). O índice de massa corporal (IMC), utilizado para avaliar o estado nutricional dos adolescentes e pré-adolescentes (10 a 19 anos), foi calculado pelo quociente entre a massa corporal (em kg) e o quadrado da estatura (em metros) (VANNUCCHI *et al.*, 1996; BARBOSA *et al.*, 2009). As curvas de referência adotadas foram as do National Center for Health Statistics (NCHS, 1977) (BRASIL, 2004).

Os dados sobre infecção por *Leishmania* em humanos foram obtidos através de teste ELISA para detecção de anticorpos contra *Leishmania*, realizado em cada inquérito com todos os participantes do estudo.

5.6.2 Avaliação sorológica das crianças

A coleta do sangue foi realizada no domicílio da criança por técnicos de enfermagem e/ou técnicos de laboratório devidamente capacitados e obedeceu aos critérios técnicos para armazenamento e estocagem. As equipes de campo utilizaram material descartável para a coleta e caixas de paredes rígidas para descarte de material perfuro-cortante. Após assepsia do local com álcool, foram coletados aproximadamente 5 ml de sangue para realização da sorologia. Este material foi processado, armazenado e examinado no Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Saúde do PIEJ.

Para determinar a presença de infecção por *Leishmania* utilizou-se teste de ELISA a partir do soro separado em microtubos de polietileno e congelado a -20° C. O ELISA foi realizado de acordo com um protocolo utilizado e padronizado no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), usando-se como antígeno um lisado de *L. infantum/L. chagasi*. A lise do parasito foi obtida através da sonicação em aparelho próprio (Branson Sonifier 450). Cada poço da placa foi sensibilizado por 16 horas a 4° C, com 5 μ g de *Leishmania* lisada diluída em 100 μ L de tampão carbonato bicarbonato a 0,1 M (pH 9.6) por poço. Após a sensibilização, os poços da placa foram lavados três vezes com salina a 0,15 M tamponada com fosfato, pH 7,2 (PBS) (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, EUA) contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-Tween 0,05%) (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, EUA) e bloqueados com 300 μ L de albumina sérica bovina (BSA) (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, EUA) a 1,0%, por 2 horas a 37° C. Após três lavagens, conforme feito anteriormente, os poços foram incubados com 100 μ L dos soros diluídos 1/100 em tampão PBS-Tween 0,05% contendo BSA a 0,5% por 1 hora a 37° C. Os poços foram lavados novamente, e 100 μ L de anti-IgG humano conjugado à fosfatase alcalina (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, EUA), diluído a 1/2000 foi colocado, incubando por mais 1 hora a 37° C. Repetiram-se mais três lavagens e em seguida foram adicionados 100 μ L do substrato p-nitro-fenil-fosfato (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, EUA) dissolvido em tampão carbonato bicarbonato + cloreto de magnésio (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, EUA), deixando incubar ao abrigo da luz por 30 a 45 minutos. A reação foi interrompida com 50 μ L de hidróxido de sódio a 3 M. A leitura foi feita com filtro para luz de 405 nm no espectrofotômetro. Em cada placa as amostras - os soros controles positivos e negativos - foram colocados em duplicatas. Um resultado positivo foi dado para cada

soro que apresentou densidade ótica superior ou igual ao ponto de corte de 0,104, que é igual a média mais três desvios-padrão dos resultados obtidos com um painel de 25 pacientes de área não endêmica negativos. Todos os soros positivos foram retestados pelo menos uma vez.

5.6.3 Avaliação sorológica dos cães

Foi coletada uma amostra de sangue total para realização do teste de ELISA. As equipes de campo tinham treinamento específico e todo material necessário para a coleta do sangue dos animais. Os cães foram contidos com “focinheiras” pelos proprietários ou pelos técnicos e, após assepsia com álcool do pescoço ou da pata, foram colhidos aproximadamente 10 mL do sangue da veia jugular ou radial, para sorologia. O material foi processado, armazenado e examinado no Laboratório de Análises Clínicas do PIEJ. O resultado dos animais sororreagentes foi repassado para o Distrito Sanitário de Jequié da FNS e PIEJ para que estes fossem recolhidos e levados ao local apropriado para eutanásia. A retirada dos animais da área se deu em 10 a 12 dias, aproximadamente, após a coleta do sangue e foi realizada por técnicos da FNS. Para eliminação, os cães foram anestesiados e, em seguida, receberam por via endovenosa ou intracardíaca, dose letal de cloreto de potássio.

Para determinar a presença de anticorpos anti-*Leishmania*, utilizou-se o teste de ELISA conforme descrito por Paranhos-Silva *et al.* (1996). Resumidamente, as placas foram sensibilizadas com extrato solúvel de promastigotas de *L. infantum/L. chagasi* obtidas de um paciente humano e os soros dos cães diluídos a 1:400. Foi utilizado imunoglobulina anti-IgG de cão conjugada a peroxidase a uma diluição de 1:5000 (Sigma Chemical Company, St Louis EUA). Foram incluídos soros de controle positivo (confirmados através de cultura) e negativo (cães com “cut off”

abaixo do estipulado e clinicamente saudáveis). O ponto de corte foi determinado a partir da média dos resultados obtidos com o soro de 102 cães saudáveis, de área não endêmica. Foram considerados positivos os cães com valores maiores que a média mais três desvios padrões do ponto de corte estabelecido. Todos os soros foram testados em duplicata e os resultados positivos re-testados pelo menos uma vez.

5.7 Processamento e análise dos dados

5.7.1 Entrada e edição dos dados

Todas as análises estatísticas foram realizadas com os programas STATA, v 10.0 e RATES II. As informações produzidas através dos questionários e os resultados dos testes de laboratório foram compilados em banco de dados informatizado para análise estatística. A entrada dos dados foi feita através de uma tela de entrada criada no programa EPI Info versão 6.04, utilizando sistema de checagem automática de erros.

5.7.2 Estatística descritiva

As freqüências das variáveis principais e das co-variáveis foram computadas e apresentadas com as respectivas distribuições, estratificadas por área e períodos.

5.7.3 Estatística analítica

O acompanhamento dos dois grupos produziu estimativas de incidência de infecção por período do estudo. Em se tratando de uma população aberta e dinâmica, as perdas ou acréscimos decorrentes de migração, morte ou nascimento foram ajustadas durante a análise através da computação do total de pessoa-tempo

para os denominadores, caracterizando, portanto, como medida de freqüência de eventos, densidade de incidência em vez de incidência cumulativa. O cálculo da densidade de incidência foi feito da seguinte forma: o número de casos de soroconversão dividido pelo somatório do tempo de acompanhamento associado a cada criança no estudo.

As densidades de incidência nas áreas controle e da intervenção foram comparadas por período através do cálculo do risco relativo (RR) e respectivo intervalo de confiança de 95%. Além da análise simples, sem ajuste de covariáveis, foi realizada análise multivariada controlando para potenciais variáveis de confusão. As variáveis com significância estatística (valor de $p < 0,10$) e/ou importância epidemiológica foram incluídas nas análises multivariadas usando modelo de riscos proporcionais (regressão de Cox). A avaliação do pressuposto básico de que os riscos de surgimento de novos casos se mantiveram constante ao longo do tempo, para as categorias de uma determinada variável independente, foi realizada utilizando técnicas gráficas de maneira análoga ao que é feito com as técnicas de avaliação de adequação do modelo ajustado. Como, visualmente, as curvas de sobrevivência das categorias avaliadas não se cruzavam, as variáveis incluídas nos modelos de Cox não foram consideradas tempo-dependentes. A comparação entre os modelos ajustados e a escolha do modelo final foi realizada através da estatística do teste da razão de verossimilhança parcial.

5.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi elaborado e executado segundo as diretrizes e normas que regem as pesquisas envolvendo seres humanos e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CPqGM-FIOCRUZ, Bahia. Os pais ou os representantes legais de todos os participantes do estudo assinaram termo de consentimento informado, contendo informações explícitas sobre a natureza e os objetivos da pesquisa, em linguagem apropriada ao nível educacional da população alvo (APÊNDICE B). A não obrigatoriedade da participação e a garantia de não discriminação no acesso aos serviços, em caso de abandono do estudo, foram também explicitados no termo de consentimento. Os potenciais riscos associados ao único procedimento invasivo do protocolo (coleta de sangue por venopunção) foram minimizados pelo uso de material estéril, descartável e pessoal capacitado e treinado. O banco de dados, contendo informações demográficas, epidemiológicas e clínicas da pesquisa, foi de acesso limitado, com os nomes dos participantes substituídos por códigos para evitar quebra do sigilo das informações armazenadas e garantir a privacidade dos indivíduos entrevistados.

Nos inquéritos caninos, a coleta de sangue e dos dados só foi realizada após autorização dos proprietários dos animais. Todos os cães sororreagentes foram submetidos a eutanásia, com cloreto de potássio, após anestesia geral, feita por técnicos qualificados, sob supervisão de médicos veterinários.

6. RESULTADOS

6.1 SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-LEISHMANIA NAS AREAS DO ESTUDO

No total, participaram da avaliação inicial 1.215 crianças com idade entre 6 meses e 12 anos, distribuídas da seguinte maneira: 632 (52%) crianças na área controle e 583 (48%) na área da intervenção do estudo. A soroprevalência de anticorpos para leishmânia foi semelhante nas duas áreas, 0,9% e 0,5%, respectivamente ($p=0,51$).

6.2 FLUXOGRAMA DE PARTICIPAÇÃO

A Figura 3 apresenta a população incluída no estudo, o percentual de perdas de seguimento, o número de soroconversões ocorridas e quantas crianças novas entraram na coorte por área de estudo. No início do estudo, das 1.215 crianças avaliadas, 1.206 eram soronegativas e foram admitidas na coorte, 626 (51,9%) na área controle e 580 na área da intervenção (48,1%). Ao final do primeiro período do estudo (dez/97 a mar/99), 170 (27,2%) crianças na área controle e 107 (18,4%) na área da intervenção foram perdidas durante o seguimento. Entre as crianças acompanhadas o número de soroconversões foi igual a 17 na área controle e 25 na área da intervenção.

No segundo período (mar/99 a jun/00), ao grupo que permaneceu soronegativo somaram-se mais 230 crianças em cada área, totalizando 1.347 crianças, 669 na área controle e 678 na área da intervenção. Neste período, foram perdidas na avaliação final 268 (40,1%) crianças na área controle e 239 (35,2%) na área da intervenção. No 2º inquérito de acompanhamento sorológico foram

detectadas 23 crianças soropositivas para *Leishmania*, 16 na área controle e 7 na área da intervenção.

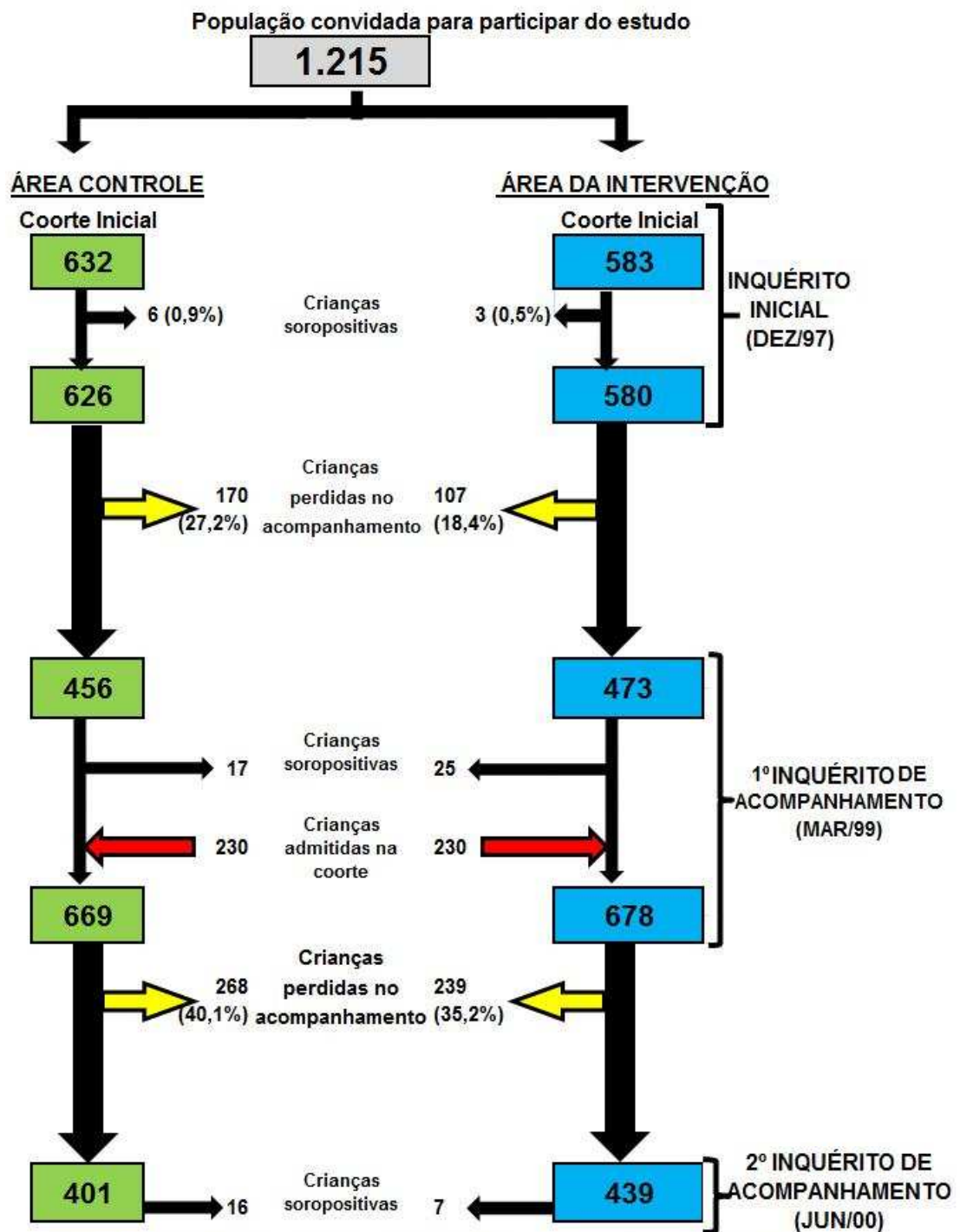


Figura 3 – Fluxograma de entrada e saída de crianças participantes da coorte do estudo, Jequié (1997-2000)

6.3 CARACTERÍSTICAS DAS CRIANÇAS E DOS DOMICÍLIOS

A Tabela 1 compara as características das crianças incluídas na coorte inicial da área controle e da área de intervenção. No geral, a distribuição da população por sexo, faixa etária e tempo de residência na cidade foi semelhante nas duas áreas. Quase metade das crianças (45%) tinha menos de seis anos e a maioria (79%) morava na cidade há três anos ou mais.

Além disso, as coortes eram também semelhantes quanto à distribuição dos indicadores nutricionais analisados. Considerando os indicadores nas crianças menores de 10 anos, mais de um quinto apresentava peso baixo para idade e 16% com altura baixa para idade. A população estudada apresentava um percentual relativamente alto de crianças em risco nutricional (17,2%). Nas crianças maiores de 10 anos, o estado nutricional foi avaliado através do IMC e, de acordo com este índice, cerca de 11,3% das crianças encontravam-se com baixo peso.

Tabela 1 - Distribuição (%) das principais características de 1.206 crianças avaliadas na coorte inicial nas áreas de estudo, Jequié, Bahia, 1997.

Características	Área Controle (N=626)	Área da Intervenção* (N=580)	Total (N=1.206)	Valor de p**
Gênero				
Masculino	46,8	47,9	47,3	0,729
Feminino	53,2	52,1	52,7	
Idade				
< 1 ano	3,0	3,6	3,3	0,891
1 ano	9,1	8,1	8,6	
2 anos	9,1	6,8	8,0	
3 anos	8,1	8,3	8,2	
4 anos	8,5	9,4	8,9	
5 anos	7,8	7,5	7,6	
6 a 7 anos	16,3	17,0	16,6	
8 a 9 anos	17,3	16,8	17,0	
10 a 11 anos	20,8	22,5	21,6	
Tempo de moradia em Jequié				
≤ 1 ano	11,4	9,4	10,4	0,412
2 anos	10,8	10,8	10,8	
3 anos	13,9	11,4	12,7	
4 anos	10,0	12,1	11,0	
≥ 5 anos	53,9	56,3	55,1	
Indicadores nutricionais (< 10 anos)				
	(N=496)	(N=447)	(N=943)	
<i>Razão peso para idade (percentil)</i>				
Peso muito baixo (0-1)	2,8	4,5	3,6	0,146
Peso baixo para idade (>1 a <3)	8,5	6,9	7,7	
Risco nutricional (3 a 10)	19,6	14,5	17,2	
Peso adequado (≥10 a <97)	66,9	71,4	69,0	
Risco sobrepeso (≥ 97)	2,2	2,7	2,4	
<i>Razão peso para altura (percentil)</i>				
Baixo peso para altura (<3)	3,2	2,9	3,1	0,334
Risco baixo peso para altura (≥3 a <10)	8,9	7,4	8,2	
Peso adequado para altura (≥10 a <97)	83,7	83,0	83,4	
Risco sobrepeso para altura (≥ 97)	4,2	6,7	5,4	
<i>Razão altura para idade (percentil)</i>				
Altura baixa para idade (<3)	17,1	14,8	16,0	0,239
Risco altura para idade (≥3 a <10)	16,3	13,2	14,8	
Altura adequada para idade (≥10 a <97)	61,9	68,2	64,9	
Altura elevada para idade (≥ 97)	4,6	3,8	4,2	
Indicadores nutricionais (≥ 10 anos)				
	(N=128)	(N=128)	(N=256)	
<i>Índice de Massa Corporal (percentil)</i>				
Baixo peso (< 5)	13,3	9,4	11,3	0,071
Peso adequado (≥5 a <85)	78,9	88,3	86,6	
Sobrepeso (≥ 85)	7,8	2,3	5,1	

* Triagem e eliminação de cães

** Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

As condições sanitárias e ambientais nos domicílios por área de estudo, bem como alguns indicadores socioeconômicos, são apontados na Tabela 2. A maior parte dos chefes de família possuía renda média mensal entre 1 a 2 salários mínimos (68,4%) e nível de escolaridade equivalente ao 1º grau (70,6%). Vale ressaltar o grande número de famílias com renda inferior a um salário mínimo (21,6%) e de chefes de família não alfabetizados (22,3%). Ainda em relação a estas duas características, no inquérito houve um percentual significativamente maior de analfabetismo e renda baixa nos domicílios da área controle comparado aos da área de intervenção. As demais variáveis analisadas apresentaram distribuição semelhante nas duas áreas do estudo. Apesar de mais de 90% dos domicílios estarem ligados a rede de energia elétrica e possuírem água canalizada do sistema de abastecimento público, 7,0% das casas não tinham instalações sanitárias.

A presença de cão no domicílio foi reportada em 44,2% dos domicílios não sendo significativamente diferente entre as duas áreas. A soroprevalência canina foi quase idêntica nas áreas controle e de intervenção, 18,2% e 18,8%, respectivamente. Dos domicílios que tinham criação de animais nos quintais, cerca de um terço criava galinha. A criação de porcos, apesar de menos freqüente, foi mais observada nos domicílios da área controle. Em apenas 3,6% dos domicílios havia relato de ocorrência anterior de caso de calazar entre os moradores.

Tabela 2 - Distribuição (%) das principais características de 604 domicílios avaliados na coorte inicial nas áreas de estudo, Jequié, Bahia, 1997.

Características	Área Controle (N=304)	Área da Intervenção* (N=300)	Total (N=604)	Valor de p**
Escolaridade chefe da família (n=578)				
Não alfabetizado	26,0	18,6	22,3	< 10 ⁻³
1º grau	71,2	70,0	70,6	
2º grau e mais	2,8	11,4	7,1	
Renda mensal da família				
< 1 salário mínimo	26,2	17,0	21,6	< 10 ⁻³
1 a 2 salários mínimos	69,2	67,7	68,4	
3 a 4 salários mínimos	3,3	8,7	6,0	
> 4 salários mínimos	1,3	6,7	4,0	
Número de moradores				
2 a 3	19,9	17,3	18,6	0,711
4 a 5	47,5	48,7	48,1	
6 a 7	32,6	34,0	33,3	
Número de cômodos				
≤ 3	24,9	27,5	26,2	0,690
4 a 5	64,1	60,7	62,4	
≥ 6	11,0	11,7	11,4	
Abastecimento de água				
Público canalizado	95,0	95,3	95,2	0,567
Poço/nascente não canalizado	0,0	0,3	0,2	
Outro	5,0	4,3	4,6	
Instalações sanitárias				
Ausente	7,0	7,1	7,0	0,207
Fora do domicílio	55,1	48,1	51,7	
Dentro do domicílio	37,9	44,8	41,3	
Energia elétrica	95,0	97,3	96,2	0,143
Presença de cão	40,5	48,0	44,2	0,070
Criação de animais no quintal				
Galinha	35,9	32,7	34,3	0,441
Porco	13,5	7,3	10,4	0,016
Outro(s) (Gato, cavalo, boi, cabra)	30,6	29,1	29,8	0,722
Borrifação com inseticida (último ano)	93,1	93,6	93,3	0,441
Ocorrência de casos prévios de calazar	2,3	5,0	3,6	0,086
Prevalência de cão soropositivo***	18,2	18,8	18,8	0,999

*Triagem e eliminação de cães

** Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

***Em amostra aleatória de cães na área controle (n=22) e em censo da população canina na área da intervenção (n=223)

A comparação das características na amostra analisada (coorte de casos com acompanhamento) com as características do grupo de crianças sem seguimento são apresentadas na tabela 3 para o primeiro período e na tabela 4 para o segundo período do estudo.

No primeiro período, a distribuição das características sócio-demográficas e dos indicadores nutricionais das crianças que permaneceram na coorte foi semelhante a aquela observada nas crianças perdidas durante o acompanhamento, tanto na área controle como na área da intervenção. A única diferença observada entre as coortes foi quanto ao tempo de moradia em Jequié. Na área controle como na área da intervenção, as coortes sem seguimento tinham um percentual menor de casos morando há menos tempo na cidade. Por se tratar de uma coorte dinâmica, novas crianças foram admitidas no estudo, sendo que, 85% eram procedentes de bairros circunvizinhos, da zona rural do próprio município, além de municípios vizinhos, endêmicos para LVH.

No segundo período do estudo, observamos nas duas áreas do estudo que as crianças sem acompanhamento tinham composição etária mais jovem do que aquelas acompanhadas na coorte. Entretanto, a distribuição das outras características analisadas e de quase todos os indicadores nutricionais foi semelhante nas coortes com seguimento e no grupo de crianças sem acompanhamento.

Tabela 3 – Distribuição de características (%) das crianças acompanhadas na coorte e daquelas sem seguimento no primeiro período do estudo (Dez/97 a Mar/99) de acordo com a área, Jequié, Bahia.

Característica	Coorte na Área Controle			Valor de p**	Coorte na Área da Intervenção*			Valor de p**
	Inicial (N=626)	Com acompanhamento (N=456)	Sem acompanhamento (N=170)		Inicial (N=580)	Com acompanhamento (N=473)	Sem acompanhamento (N=107)	
Sexo								
Masculino	46,8	46,9	46,5	0,918	47,9	47,8	48,6	0,878
Feminino	53,2	53,1	53,5		52,1	52,2	51,4	
Faixa etária								
< 1 ano	3,0	2,4	4,7		3,6	2,8	7,5	
1 ano	9,1	7,7	12,9		8,1	8,1	8,4	
2 a 3 anos	17,3	16,2	20,0		15,1	14,7	16,8	
4 a 5 anos	16,3	16,2	16,5	0,071	16,8	17,0	15,9	0,244
6 a 7 anos	16,3	16,4	15,9		17,0	18,1	12,1	
8 a 9 anos	17,3	18,0	15,3		16,8	17,2	15,0	
≥ 10 anos	20,8	23,0	14,7		22,5	22,1	24,3	
Renda mensal da família								
< 1 salário mínimo	26,3	25,9	27,5		19,1	20,9	11,2	
1 a 3 salários mínimos	69,2	68,6	70,7	0,143	65,9	64,7	71,0	0,064
> 3 salários mínimos	4,5	5,5	1,8		15,0	14,4	17,8	
Escolaridade do chefe da família (N=591)		(N=426)	(N=165)		(N=563)	(N=462)	(N=101)	
Não alfabetizado	27,7	30,0	21,2		23,1	24,7	15,8	
1º grau	69,7	67,1	76,4	0,083	68,4	67,1	74,3	0,158
2º grau e mais	2,5	2,6	2,4		8,5	8,2	9,9	
Tempo de moradia em Jequié (N=590)		(N=436)	(N=154)		(N=545)	(N=452)	(N=93)	
≤ 1 ano	11,4	9,2	17,5		9,4	9,1	10,8	
2 anos	10,8	9,6	14,3		10,8	8,6	21,5	
3 anos	13,9	14,9	11,0	0,014	11,4	11,7	9,7	0,007
4 anos	10,0	9,9	10,4		12,1	12,6	9,7	
≥ 5 anos	53,9	56,4	46,8		56,3	58,0	48,4	

* Triagem e eliminação de cães

**Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

Tabela 3 - Distribuição de características (%) das crianças acompanhadas na coorte e daquelas sem seguimento no primeiro período do estudo (Dez/97 a Mar/99) de acordo com a área, Jequié, Bahia (continuação).

Característica	Coorte na Área Controle			Coorte na Área da Intervenção*			Valor de p**
	Inicial (N=626)	Com acompanhamento (N=456)	Sem acompanhamento (N=170)	Inicial (N=580)	Com acompanhamento (N=473)	Sem acompanhamento (N=107)	
Indicadores nutricionais (< 10 anos) (percentil)							
<i>Razão peso para idade (percentil)</i>							
Peso muito baixo	2,8	2,6	3,4	4,5	3,8	7,4	
Peso baixo para idade	8,5	8,3	9,0	6,9	27 (7,4)	4,9	
Risco nutricional	19,6	19,9	18,6	14,5	15,0	12,3	0,584
Peso adequado	66,9	67,0	66,9	71,4	71,0	72,8	
Risco sobrepeso	2,2	2,3	2,1	2,7	12,7	2,5	
<i>Razão peso para altura (percentil)</i>							
Baixo peso para altura	3,2	2,8	4,1	2,9	2,2	6,2	
Risco de baixo peso para altura	8,9	10,0	6,2	7,4	8,5	2,5	0,060
Peso adequado para altura	83,7	82,6	86,2	83,0	82,2	86,4	
Risco sobrepeso para altura	4,2	4,6	3,4	6,7	7,1	4,9	
<i>Razão altura para idade (percentil)</i>							
Altura baixa para idade	17,1	17,1	17,2	14,8	14,5	16,0	
Risco altura para idade	16,3	16,5	15,9	13,2	13,4	12,3	0,084
Altura adequada para idade	61,9	62,7	60,0	68,2	69,4	63,0	
Altura elevada para idade	4,6	3,7	6,9	3,8	2,7	8,6	
Indicadores nutricionais (≥ 10 anos) (N=128) (N=103) (N=25)							
<i>Índice de Massa Corporal (percentil)</i>							
Baixo peso	13,3	14,6	8,0	9,4	6,8	20,0	
Peso adequado	78,9	77,7	84,0	2,3	2,9	0	0,095
Sobrepeso	7,8	7,8	8,0	2,3	2,9	0	

* Triagem e eliminação de cães

**Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

Tabela 4 – Distribuição de características (%) das crianças acompanhadas na coorte e daquelas sem seguimento no segundo período do estudo (Mar/99 a Jun/00) de acordo com a área, Jequié, Bahia. 63

Característica	Coorte na Área Controle			Valor de p**	Coorte na Área da Intervenção*			Valor de p**
	Inicial (N=669)	Com acompanhamento (N=401)	Sem acompanhamento (N=268)		Inicial (N=678)	Com acompanhamento (N=439)	Sem acompanhamento (N=239)	
Sexo								
Masculino	49,0	48,9	49,3	0,924	51,0	49,2	54,4	0,196
Feminino	51,0	51,1	50,7		49,0	50,8	45,6	
Faixa etária								
< 1 ano	0,4	0	1,1		1,0	1,6	0	
1 ano	9,7	7,0	13,8		10,0	8,4	13,0	
2 a 3 anos	17,5	16,0	19,8		17,0	16,2	18,4	
4 a 5 anos	14,3	13,7	15,3	0,001	17,0	17,1	16,7	0,050
6 a 7 anos	16,3	15,7	17,2		15,6	14,1	18,4	
8 a 9 anos	16,7	19,2	13,1		14,3	15,3	12,6	
≥ 10 anos	25,0	28,4	19,8		25,1	27,3	20,9	
Renda mensal da família								
< 1 salário mínimo	11,9	10,3	14,0		11,7	11,8	11,6	
1 a 2 salários mínimos	80,2	82,1	77,4	0,316	67,1	68,2	65,2	0,640
≥ 3 salários mínimos	8,0	7,5	8,6		21,2	20,0	23,2	
Escolaridade do chefe da família								
Não alfabetizado	37,5	36,3	39,1		26,9	25,5	29,3	
1º grau	59,2	60,2	57,7	0,776	64,3	67	59,8	0,145
2º grau e mais	3,4	3,5	3,2		8,8	7,5	10,9	
Tempo de moradia em Jequié								
≤ 1 ano	9,9	7,8	13,9		11,6	9,4	15,8	
2 anos	10,2	9,9	10,6		11,9	11,0	13,7	
3 anos	14,8	13,5	17,2	0,173	11,0	10,5	12,0	0,103
4 anos	9,9	10,3	9,3		11,7	11,9	11,5	
≥ 5 anos	55,2	58,5	49,0		53,8	57,2	47,0	

* Triagem e eliminação de cães

**Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

Tabela 4 - Distribuição de características (%) das crianças acompanhadas na coorte e daquelas sem seguimento no segundo período do estudo (Mar/99 a Jun/00) de acordo com a área, Jequié, Bahia (continuação).

Característica	Coorte na Área Controle		Valor de p**	Coorte na Área da Intervenção*		Valor de p**
	Inicial (N=669)	Com acompanhamento (N=401)		Inicial (N=678)	Com acompanhamento (N=439)	
Indicadores nutricionais (< 10anos)						
<i>Razão peso para idade (percentil)</i>						
Peso muito baixo	2,9	2,9		4,1	5,0	2,8
Peso baixo para idade	3,4	2,9		5,0	3,8	6,8
Risco nutricional	19,4	20,6	0,873	15,0	14,5	15,8
Peso adequado	69,5	69,5		68,3	69,8	66,1
Risco sobre peso	4,7	4,1		7,5	6,9	8,5
<i>Razão peso para altura (percentil)</i>						
Baixo peso para altura	4,1	1,6		4,3	5,0	3,4
Risco de baixo peso para altura	7,4	9,5	0,013	7,3	7,6	6,8
Peso adequado para altura	83,7	84,0		80,2	79,8	80,8
Risco sobre peso para altura	4,7	4,9		8,2	7,6	9,0
<i>Razão altura para idade (percentil)</i>						
Altura baixa para idade	11,7	14,0		13,0	11,5	15,3
Risco altura para idade	16,0	12,3	0,064	10,5	9,2	12,4
Altura adequada para idade	65,7	67,5		69,0	72,9	63,3
Altura elevada para idade	6,5	6,2		7,5	6,5	9,0
Indicadores nutricionais (≥ 10anos)						
<i>Índice de Massa Corporal(percentil)</i>						
Baixo peso	8,0	7,2		12,4	12,6	12,1
Peso adequado	82,9	84,8	0,614	82,2	82,7	81,0
Sobrepeso	9,1	8,0		5,4	4,7	6,9

* Triagem e eliminação de cães

** Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

6.4 DENSIDADE DE INCIDÊNCIA

As taxas de incidência de soroconversão para anticorpos anti-*Leishmania* por período do estudo na área controle e na área da intervenção, juntamente com os respectivos riscos relativos brutos e ajustados, são apresentados na Tabela 5. Durante o primeiro ano do estudo, a incidência foi de 29,8/1000 crianças-ano na área controle e de 42,7/1000 crianças-ano na área da intervenção. Apesar da estimativa de risco de infecção ter sido maior na área da intervenção, esta diferença não foi significativa, estatisticamente (RR=1,43; IC 95% 0,78–2,63). Na análise ajustada para: idade, sexo, criação de animais, presença de cão, renda e escolaridade do chefe da família, o risco relativo foi de 1,59 (IC 95% 0,85–2,97),

No segundo período do estudo, a incidência na área da intervenção foi menor do que na área controle, 13,1/1000 crianças-ano e 33,4/1000 crianças-ano, respectivamente. Esta diferença foi significativa, tanto na análise simples (RR=0,39; IC 95% 0,17–0,93) como na ajustada (RR=0,23; IC 95% 0,08–0,65), indicando uma redução no risco de infecção na área da intervenção ao fim do segundo período do estudo.

Tabela 5 - Incidência de soroconversão para anticorpo anti-*Leishmania* na área controle e na área da intervenção por período de observação, Jequié, Bahia, 1997-2000.

Períodos	Soro Conversão	Total criança-ano	Incidência*	Risco Relativo (95% IC) †	Risco Relativo Ajustado *** (95% IC) †
Primeiro (Dez/97-Mar/99)					
Área controle	17	570,9	29,8	(Referência)	(Referência)
Área intervenção**	25	585,4	42,7	1,43 (0,78-2,63)	1,59 (0,85-2,97)
Segundo (Mar/99-Jun/00)					
Área controle	16	478,8	33,4	(Referência)	(Referência)
Área intervenção**	7	532,7	13,1	0,39 (0,17-0,93)	0,23 (0,08-0,65)

† IC - Intervalo de confiança 95%

* Por 1.000 criança-ano

** Triagem e eliminação de cães soropositivos

*** Ajustado para as variáveis: idade, sexo, nível de instrução do chefe da família, presença de cão no domicílio, criação de galinha, porcos e instalações sanitárias no domicílio.

Na tabela 6, são comparados os dados de incidência de soroconversão para anticorpos anti-*Leishmania* na mesma área por período do estudo. Os resultados sugerem que na área controle não houve mudança significativa da incidência nos dois períodos (RR=1,12; IC 95% 0,57–2,22). Entretanto, na área da intervenção a incidência de soroconversão no segundo período foi significativamente menor do que no primeiro período (RR=0,31; IC 95% 0,13–0,71).

Tabela 6 – Incidência de soroconversão para anticorpos anti-*Leishmania* nas duas áreas do estudo por período de observação, Jequié, 1997-2000.

Área	Incidência (1000/criança-ano)	Risco Relativo (95% IC)†
Controle		
1º Período (Dez/97 a Mar/99)	29,8	(Referência)
2º Período (Mar/99 a Jun/00)	33,4	1,12 (0,57 - 2,22)
Área da intervenção*		
1º Período (Dez/97 a Mar/99)	42,7	(Referência)
2º Período (Mar/99 a Jun/00)	13,1	0,31 (0,13 - 0,71)

† IC - Intervalo de confiança 95%

* Triagem e eliminação de cães soropositivos

7. DISCUSSÃO

Este ensaio comunitário teve como objetivo avaliar a eficácia de estratégia otimizada para triagem e eliminação de cães soropositivos no controle e prevenção da LVH. Foram estimados coeficientes de incidência de soroconversão em coortes de crianças menores de 12 anos de idade residentes em duas áreas na periferia da cidade de Jequié e o risco relativo de infecção por área e período do estudo.

Nossos resultados indicam que a intervenção não reduziu a incidência de novas infecções no primeiro período, ou seja, após 15 meses de observação. Entretanto, no final do segundo período, após 30 meses de observação, houve uma redução de aproximadamente 61% na taxa de soroconversão na área submetida à intervenção comparada à área controle. Esta redução foi ainda maior na análise ajustada (77%).

Na comparação feita no final do primeiro período (15 meses) do estudo, a triagem e eliminação de cães soropositivos na área da intervenção havia sido realizada apenas duas vezes. Já no final do segundo período (30 meses) do estudo, a comparação entre as áreas é feita após a realização de quatro ciclos de intervenção. Isto pode explicar porque só foi detectada uma redução nas taxas de soroconversão no segundo período. Portanto, o impacto da intervenção foi provavelmente dependente do número de triagens e eliminação de cães realizadas até o momento da avaliação.

A estratégia de triagem e eliminação de cães, apesar de relativamente simples do ponto de vista conceitual, apresenta, na prática, muitas dificuldades e limitações para sua execução. Entre elas destacamos: deficiência na sensibilidade dos testes de triagem, baixas taxas de cobertura dos censos caninos, presença de cães vadios não testados, demora na retirada dos cães positivos, falta de cooperação da população e altas taxas de natalidade e de renovação da população canina (DYE, 1996, DIETZE *et al.*, 1997; ASHFORD *et al.*, 1998, 1998, MOREIRA Jr. *et al.*, 2004). Portanto, o grande número de limitações não justifica uma expectativa de alta eficácia desta intervenção, nem muito menos que estes resultados sejam alcançados imediatamente. Ao contrário, é de se esperar que as potenciais falhas resultantes destas limitações possam retardar ou até impedir que esta estratégia funcione na prevenção da LVH. É plausível que a repetição de intervenções em formato otimizado, como no presente estudo, possa minorar as limitações desta estratégia realizada isoladamente, levando à redução das taxas de soroconversão. Isto seria alcançado não pelo efeito de uma intervenção única, ou de um número reduzido de ciclos, mas pelo resultado cumulativo da repetição sustentada da intervenção ao longo de um período de tempo. Portanto, após iniciar a triagem e

eliminação de cães não haveria um impacto em curto prazo, seria necessário um período de latência, até que se começasse a observar o resultado da intervenção, pela repetição regular dos ciclos de triagem /eliminação dos cães.

A incidência de soroconversão na área controle permaneceu relativamente constante durante todo o estudo, 29,8 e 33,4/1000 crianças-ano no primeiro e segundo períodos, ou seja, com 15 e 30 meses após a intervenção, respectivamente. Enquanto na área da intervenção houve uma redução significativa destas taxas durante o estudo. Portanto, apesar da infecção continuar ocorrendo com aproximadamente a mesma freqüência na área controle, na área vizinha onde se realizou a intervenção, a taxa de infecção diminuiu em quase dois terços. Estes dados reforçam a hipótese que a redução alcançada na infecção por *Leishmania* foi resultado da estratégia de controle e não de uma tendência temporal de redução ou de variação sazonal na ocorrência da infecção na área estudada.

As primeiras evidências de demonstração de ações de controle da infecção por *Leishmania* e impacto na redução do calazar foram demonstradas em estudos realizados em regiões endêmicas da China, Ásia Central e algumas regiões do Mediterrâneo. Nestes estudos, foram utilizadas como estratégias de controle a eliminação de cães soropositivos, aliada ao tratamento dos casos humanos e a borrifação dos domicílios com inseticidas. Estas experiências serviram de base para a adoção dessas estratégias como campanhas de controle e passaram a ser recomendadas no controle da doença em áreas endêmicas (PALATNIK-DE-SOUZA *et al.*, 2001).

Uma vez implantado o PCLV no Brasil, vários estudos não controlados foram realizados com objetivo de avaliar o impacto das medidas de controle na redução da incidência da LVH. Magalhães *et al.* (1980), ao analisarem as estratégias de controle

da LV em 19 diferentes municípios do Vale do Rio Doce, Minas Gerais, por um período de 15 anos, observaram tanto a redução da incidência de casos humanos como caninos de LV. Vale destacar que, em um dos municípios, Itanhomi, após dois anos do início das atividades de controle, os casos humanos e caninos de LV foram reduzidos até a completa eliminação da transmissão da doença em 1979. O controle canino foi sistemático, enquanto que o controle do vetor com inseticida foi realizado uma vez por ano ao longo de um período de três anos. Alencar *et al.* (1974) também relataram que a incidência da LV em áreas endêmicas aumentou progressivamente após a interrupção da campanha de controle no campo. Estes resultados também foram descritos por Jerônimo *et al.* (2000), ao detectarem diminuição concomitante entre o número de casos pediátricos de LV e cães infectados em Brotas, no Ceará, entre 1987 a 1997, quando as atividades de controle do reservatório canino estabelecido pelo programa nacional foram implementadas.

Oliveira e Araújo (2003), ao avaliarem as estratégias do PCLV em 124 localidades urbana e rurais no município de Feira de Santana, Bahia, entre 1995 e 2000, apontaram para o efeito protetor da eliminação de cães e borrifação com inseticida piretróide no controle da LVH, e uma correlação negativa entre o número de ciclos anuais de inquérito canino e a incidência de casos humanos de LV nos seis anos do estudo. Demonstraram, também, que a efetividade da intervenção não é linearmente distribuída no tempo, mas que aumenta gradativamente, à medida que a mesma é repetida ao longo do tempo. Outro estudo de avaliação não controlado da estratégia de triagem e eliminação de cães, descrito por Nunes *et al.* (2010) entre 1999 a 2008 em Araçatuba, São Paulo, não detectaram correlação entre a incidência de LVH e a prevalência canina simultaneamente ou após um ano da realização da ação de controle. Contudo, ao analisarem o resultado desta estratégia

dois anos depois, detectaram uma correlação inversa entre a incidência de LVH e a percentual de eliminação canina.

Entretanto, um estudo também não controlado, realizado na Ilha de Marajó, que modelou o efeito da eliminação do cão, não detectou redução na incidência de LVH (COURTENAY *et al.*, 2002). Os autores referem que a efetividade da triagem e eliminação de cães depende de um diagnóstico acurado, capaz de detectar qualquer animal infectado, principalmente aqueles no período latente da infecção. Além de um menor intervalo de tempo entre o diagnóstico, captura e eliminação do animal. Neste modelo, considerou-se que a eliminação de cães soropositivos foi realizada 120 dias após a triagem.

Em relação a estudos de intervenção controlados, a semelhança do nosso estudo, Ashford *et al.* (1998), avaliaram a estratégia de triagem e eliminação de cães soropositivos por quatro anos na cidade de Jacobina, estado da Bahia, relatando que, na área submetida a intervenção, ocorreu um número significativamente menor de casos de LV em menores de 15 anos ($p < 0,01$) em comparação com a área controle durante todo período do estudo. Foi observada também uma redução na soroprevalência canina nos dois primeiros anos do estudo ($p < 0,05$) na área da intervenção quando comparada a área controle, que se manteve nos dois anos seguintes do estudo. Contudo, esta redução não foi significativa do ponto de vista estatístico ao ser considerado todo o período estudado. A soroprevalência canina na área controle permaneceu sem alteração ao longo de todo estudo. Uma das prováveis limitações deste estudo foi o pequeno número de cães incluídos na coorte e a perda de acompanhamento não avaliada, que pode ter reduzido o poder estatístico para detectar a redução da soroprevalência. Este estudo teve duração de quatro anos e foram realizados quatro inquéritos caninos anuais de

acompanhamento para triagem dos cães com a técnica de FAST-ELISA, que apresenta maior sensibilidade que a reação de imunofluorescência indireta utilizada na rotina do programa nacional de controle da LVH.

Em outro estudo de intervenção controlada realizado na cidade de Teresina, Piauí (COSTA *et al.*, 2007), compararam quatro áreas urbanas, que sofreram diferentes intervenções: (i) borrifação intradomiciliar e anexos (galinheiros, depósitos); (ii) borrifação intradomiciliar com eliminação de cães soropositivos; (iii) combinação das duas intervenções e (iiii) borrifação intradomiciliar apenas, considerada como área controle. Este estudo foi realizado durante um ano e teve um único inquérito de acompanhamento. Verificou-se redução significativa na incidência de casos humanos apenas na área onde foi realizada a borrifação domiciliar com eliminação de cães soropositivos, indicando o efeito protetor da eliminação de cães adicionalmente ao efeito propiciado pela borrifação intradomiciliar. Vale ressaltar as limitações deste estudo: período do estudo relativamente curto (1 ano) e realização de apenas um inquérito de acompanhamento. Além disso, houve elevado percentual de perdas de acompanhamento (44%) que não foram avaliadas e variação na prevalência da infecção entre as áreas da intervenção.

Considerando ainda ensaios de intervenção controlada, Souza *et al.* (2008) avaliaram o resultado de dois tipos de intervenções por 27 meses, também em áreas urbanas: (i) borrifação, (ii) borrifação e triagem/eliminação de cães soropositivos, comparados a uma área controle, onde não foi realizado nenhum tipo de intervenção. Foi detectada uma pequena redução da incidência de soroconversão para anticorpos anti-*Leishmania*, na área de borrifação com eliminação de cães soropositivos sugerindo que a combinação dessas medidas poderia ser mais efetiva

na prevenção e controle da LVH, porém esta redução não foi significativa estatisticamente.

Em outro estudo controlado, realizado por Dietze *et al.* (1997) em três áreas de vale no estado do Espírito Santo, Brasil, não foi detectada diferença na taxa de soroconversão da LVH, ao avaliar o efeito da eliminação de cães soropositivos. Este estudo durou 1 ano, com a realização de dois inquéritos caninos de acompanhamento. Várias limitações podem ter interferido nos resultados: comparabilidade das áreas não foi demonstrada, principalmente por se tratar de áreas distantes, não vizinhas; pequeno número de participantes (humanos e caninos) e altas taxas de perda de acompanhamento não avaliadas. A triagem dos cães foi realizada por meio da RIFI que apresenta menor sensibilidade comparada ao ELISA.

Dye (1996), utilizando modelos matemáticos, projetado a partir dos resultados de Alencar (1961), concluiu que, em áreas endêmicas, a remoção de cães tem um menor efeito sobre a prevalência e incidência de casos humanos e caninos de LV do que o controle com inseticida. Uma análise mais aprofundada do seu modelo mostrou, em contrapartida, que a eliminação de cães pode ser efetiva no controle da doença se a sensibilidade dos métodos diagnósticos for aumentada e se o tempo entre o diagnóstico e a retirada do cão do ambiente for reduzido (COURTENAY *et al.*, 2002; PALATNIK-DE-SOUZA *et al.*, 2004).

Nossos resultados, portanto, são consistentes com os estudos controlados que demonstraram eficácia da intervenção (triagem/eliminação de cães soropositivos) descritos por Ashford *et al.*, em 1998; Costa *et al.*, em 2007. Apesar dos resultados de Dietze *et al.*, em 1997, serem aparentemente inconsistentes com nossos resultados, vale ressaltar que, no nosso estudo, o efeito da intervenção

também não foi detectado quando realizado em apenas dois ciclos de triagem/eliminação de cães.

Limitações e méritos

Em nosso estudo foram escolhidos dois bairros próximos e semelhantes para minimizar diferença nas características sócio-demográficas, ambientais e climáticas. As coortes incluídas no estudo eram constituídas por crianças de famílias com baixas condições sócio-econômicas, com indicadores nutricionais desfavoráveis e residentes em uma área endêmica para LVH, portanto, buscando maximizar o poder estatístico do nosso estudo por se tratar de uma população de alto risco para LVH.

No início do estudo, as áreas controle e da intervenção eram comparáveis quanto à distribuição das características sócio-demográficas e dos indicadores nutricionais das crianças. Embora houvesse um maior percentual de analfabetismo e renda baixa entre os chefes de família na área controle, isto não parece ter afetado o risco de infecção por *Leishmania*, já que a incidência de soroconversão foi semelhante nas duas áreas após 15 meses de acompanhamento. Além disso, a redução observada na comparação de incidências após 30 meses de acompanhamento permaneceu presente na análise ajustada para escolaridade e renda do chefe da família. A soroprevalência de anticorpos anti-*Leishmania* virtualmente idêntica nos cães das duas áreas apóia a premissa que, além de semelhantes, as áreas estão sujeitas também a um risco de infecção semelhante.

Uma limitação importante do nosso estudo foi a grande taxa de perda de acompanhamento. Não obstante, nossas taxas não são maiores que a de outros estudos semelhantes conduzidos em populações parecidas (DIETZE *et al.*, 1997; COSTA *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008). Na maioria das características analisadas,

as crianças sem acompanhamento não diferiram significativamente daquelas acompanhadas, tanto na área controle quanto na da intervenção. Portanto, as taxas de perda, ainda que altas, não estavam relacionadas a fatores de risco para infecção. Assim, é improvável que tenham introduzido viés nos nossos resultados.

8. CONCLUSÕES

A partir dos nossos achados, é possível concluir que:

1. A intervenção (triagem e eliminação de cães soropositivos) não foi eficaz na redução da incidência da infecção por *Leishmania* no final do primeiro período, ou seja, após 15 meses da realização de dois ciclos da triagem canina;
2. Entretanto, houve uma redução importante (77%) da infecção por *Leishmania* na avaliação ao final do segundo período, após 30 meses da realização de quatro ciclos da triagem canina;
3. A eficácia da intervenção é dependente ou do número de ciclos de triagem/eliminação de cães realizado e/ou do tempo após a primeira intervenção.

As limitações e as potenciais falhas resultantes da intervenção impossibilitam que esta ação tenha um resultado imediato. A sua repetição por um período sustentado, pode minorar estas limitações e permitir que esta estratégia seja eficaz. Não basta, portanto, otimizar a estratégia de intervenção, é preciso repetir os ciclos por tempo suficiente para atingir redução nas taxas de infecção por *Leishmania*.

9. REFERÊNCIAS

ABRANCHES, P. et al. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. **J Parasitol**, v. 77, n.4, p. 557-561, 1991.

ABRANCHES, P. et al. Canine leishmaniasis. New concepts of epidemiology and immunopathology: their impact in the control of human visceral leishmaniasis. **Acta Med Port**, v. 11, n. 10, p.871-875, 1998.

AGUIAR, G. M. et al. Ecology of the sandflies of Itaguaí, an area of cutaneous leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro. Food preferences (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 583-584, 1987.

ALENCAR J. E. Leishmaniose visceral no Novo Mundo. **Publ Méd**, v. 196, p. 71-85, 1956.

_____. et al. Infecção natural de *Rattus alexandrinus* por *Leishmania* (provavelmente *L. braziliensis*) em zona endêmica de leishmaniose tegumentar do Estado do Ceará, Brasil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 2, p. 347-348, 1960.

_____. et al. Profilaxia do calazar no Ceará, Brasil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 3, n. 4, p. 175-80, 1961.

_____. et al. Aspectos atuais do calazar no Ceará. **Rev Bras Malariol Doenças Trop**, v. 26-27, p. 27-53, 1974.

_____. Expansão do calazar no Brasil. **Ceará Médico**, v. 5, n. 1-2, p. 86-102, 1983.

ALEXANDER, B. Dispersal of Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in a Colombian coffee plantation. **J Med Entomol**, n. 24, p. 552-558, 1987.

ALEXANDER, B. & MAROLI, M. Control of phlebotomine sandflies. **Med Vet Entomol**, v. 17, n. 1, p. 1-18, 2003.

ALVES, W. A. & BEVILACQUA P. D. Quality of diagnosis of canine visceral leishmaniasis in epidemiological surveys: an epidemic in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 1993-1997. **Cad Saude Publ**, v. 20, n. 1, p. 259-265, 2004.

ASHFORD, D. A. et al. Studies on the control of visceral leishmaniasis: validation of the Falcon assay screening test-enzyme-linked immunosorbent assay (FAST-ELISA) for field diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Am J Trop Med Hyg**, v. 48, n.1, p. 1-8, 1993.

_____. et al. Comparison of the polymerase chain reaction and serology for the detection of canine visceral leishmaniasis. **Am J Trop Med Hyg**, v. 53, n.3, p. 251-255, 1995.

_____. et al. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, v. 55, n. 1, p. 53-57, 1998.

ASHFORD, R. W. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. **Clin Dermatol**, v. 14, n. 5, p. 523-532, 1996.

_____. When is a reservoir not a reservoir? **Emerg Infect Dis**, n. 9, p. 1495-1496, 2003.

BADARÓ, R. et al. Imunidade humoral e celular em indivíduos curados de leishmaniose visceral. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 18, p. 77-83, 1985.

_____. Progress of research in visceral Leishmaniasis in the endemic area of Jacobina, Bahia. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 21, p.159-164, 1986.

_____. et al. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. **J Infect Dis**, v. 154, n. 4, p. 639-649, 1986a.

_____. et al. Evaluation of the micro enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies in American visceral leishmaniasis: antigen selection for detection of infection-specific responses. **Am J Trop Med Hyg**, v.35, n.1, p.72-78, 1986b.

_____. Leishmaniose Visceral (calazar). In: **Tratado de Infectologia**, p. 1234-1259, 1996.

_____. et al. rK39: a cloned antigen *Leishmania chagasi* that predicts active visceral leishmaniasis. **J Infect Dis**, v.173, n. 3, p. 758-761, 1996a.

BAHIA. Secretaria de Saúde. Superintendência de Vigilância e Proteção da Saúde, Diretoria de Vigilância Epidemiológica. **Relatório 1999**, Salvador, 62 p.

BARATA, R. A. et al. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.38, n. 5, p. 421-425, 2005.

BARBOSA, R. M. S. et al. Avaliação do estado nutricional de escolares segundo três referências. **Rev Paul Pediatr**, v. 27, n. 3, p. 243-250, 2009.

BERRAHAL, F. et al. Canine leishmaniasis: identification of asymptomatic carriers by polymerase chain reaction and immunoblotting. **Am J Trop Med Hyg**, n. 55, v. 3, p. 273-277, 1996.

BORGES V. C. et al. Intradermoreação de Montenegro após sucessivas repetições do teste em Porteirinha, MG. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36, p. 249-251, 2002.

BORJA-CABRERA, G. P. et al. Long lasting protection against canine kala-azar using the FML-QuilA saponin vaccine in an endemic area of Brazil (Sao Gonçalo do Amarante, RN). **Vaccine**, v. 20, n. 27-28, p. 3277-3284, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Controle, diagnóstico e tratamento de leishmaniose visceral (Calazar) – Normas Técnicas**. Brasília, 1996.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral (Calazar). Normas e manuais técnicos**. Brasília, 2003.

_____. Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Geral de políticas de Alimentação e Nutrição. **Vigilância Alimentar e Nutricional-SISVAN: orientações básicas para a coleta e análises de dados antropométricos em serviço de saúde. Normas e manuais técnicos**. Brasília, 2004.

_____. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Epidemiologia. **Guia de vigilância epidemiológica**. Brasília, 2005.

BRAGA, M. D. M. et al. Controle do calazar canino: Comparação dos resultados de um programa de eliminação rápida de cães sororreagentes por ensaio imunoenzimático com outro de eliminação tardia de cães sororreagentes por teste de imunofluorescência indireta de eluato de papel filtro. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 31, n. 5, p. 419-424, 1998.

BRAZIL, R. P. et al. Infecção natural do porco (*Sus scrofa*) por *leishmania* em foco recente de Leishmaniose Tegumentar na Ilha de São Luiz, Maranhão. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 145, 1987.

BRESCIANI K. D. S. et al. Ocorrência de *Leishmania spp.* em felinos do município de Araçatuba, São Paulo. **Rev Bras Parasitol Vet**, v.19, n. 2, p. 217-219, 2010.

CABRERA, M. A. A. et al. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: Assessment of risk factors. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 42, n. 5, p. 79-83, 2003.

CALDAS, A. J. et al. Infecção por *Leishmania (leishmania) chagasi* em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na Ilha de São Luiz-MA, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 34, n. 5, p. 445-451, 2001.

CAMARGO, L. B. & LANGONI, T. Impacto of leishmaniasis on public health. **J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis**, v.12, n. 4, p. 527-548, 2006.

CARVALHO, M. R. et al. Phlebotomine sandfly species from an American visceral leishmaniasis area in the Northern Rainforest region of Pernambuco State, Brazil. **Cad Saude Publ**, v. 23, n.5, p.1227-1232, 2007.

CERQUEIRA, E. J. L. et al. Resultados de testes de ELISA, TRALd e PCR em eqüídeos de áreas endêmicas de leishmaniose visceral no Estado da Bahia. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 34, p. 242, 2001.

CHAGAS, E. et al. Leishmaniose visceral americana: nova entidade mórbida do homem na América do Sul. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 32, p. 321-331, 1937.

CHANIOTIS, B.N. et al. Horizontal and vertical movements of phlebotomine sandflies in a Panamanian rain forest. **J Med Entomol**, v. 11, n. 3, p. 369-375, 1974.

CORREDOR, A. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. **Am J Trop Med Hyg**, v. 40, n. 5, p. 480-486, 1989.

COSTA, C. A. et al., Leishmaniose visceral canina: avaliação da metodologia sorológica utilizada em inquéritos epidemiológicos. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 24, n.1, p. 21-25, 1991.

COSTA, J. M. L. et al. Leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil. A evolução de uma epidemia. **Cad Saude Publ**, v. 11, n. 2, p. 321-324, 1995.

COSTA, C. H. N. & VIEIRA J. B. F. Mudanças no controle da leishmaniose visceral no Brasil. Informe técnico. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 34, n.2, p. 223-228, 2001.

_____. et al. Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 40, n. 4, p. 415-419, 2007.

COURTENAY, O. et al. Infectiousness in a cohort of brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. **J Infect Dis**, v. 186, n. 9, p. 1314-1320, 2002.

DANTAS-TORRES, F. & BRANDAO-FILHO, S. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 151-156, 2006.

_____. The role of dogs as reservoir of *Leishmanias* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) brasiliensis*. **Vet Parasitol**, n. 149, p. 139-146, 2007.

DA SILVA, V. O. et. al A phase III trial of efficacy of the FML vaccine against canine kala-azar in an endemic area of Brazil (São Gonçalo do Amarante, RN). **Vaccine**, n. 19, p. 1082-1092, 2001.

DAVID, J. R. et al. Deltamethrin-impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 6, p. 839-847, 2001.

DEANE, L. M. & DEANE, M. P. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatório da *Leishmania donovani*, em área endêmica de calazar, no Ceará. **Rev Bras Malariol Doen Trop**, n. 48, p. 60-76, 1955.

_____. **Leishmaniose visceral: estudo sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará**. Tese. Serviço Nacional de Educação Sanitária. Rio de Janeiro, 1956, 162p.

_____. Reservatórios da *Leishmania donovani* no Brasil. **Rev Assoc Med Brasil**, v. 7, p. 161-169, 1958.

_____. Epidemiologia e Profilaxia do Calazar Americano. **Rev Bras Malariol Doen Trop**, v. 10, p. 431-449, 1961.

DE LIMA, H. et al. Cotton rats (*Sigmodon hispidus*) and black rats (*Rattus rattus*) as possible reservoirs of *Leishmania spp.* in Lara State, Venezuela. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 2, p. 169-174, 2002.

DESJEUX, P. **Urbanisation of the leishmaniasis. Communicable disease surveillance and response, emerging public health risks (CSR/EPH)**. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum. Sevilla, Spain, p.49-55, 2002.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspective. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis**, v. 27, n. 5, p. 305-318, 2004.

DIETZE, R. et al. Effect of eliminating seropositive canines on the transmission of visceral leishmaniasis in Brasil. **Clin Infect Dis**, v. 25, n.5, p.1240-1242, 1997.

DYE, C. et al. Communication among phlebotomine sandflies: A field study of domesticated *Lutzomyia longipalpis* population in Amazonian Brazil. **Anim Bah**, v. 42, p. 183-192, 1991.

DYE, C. The logic of visceral leishmaniasis control. **Am J Trop Med Hyg**, v. 55, n. 2, p. 125-130, 1996

EVANS, T. G. et al. Canine visceral leishmaniasis in northeast Brazil: assessment of serodiagnosis methods. **Am J Trop Med Hyg**, v. 42, n. 2, p. 118-123, 1990.

EVANS, T. G. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in northeast Brazil. **J Infect Dis**, v. 166, n. 5, p. 1124, 1132, 1992

FERRO, C. et al. Larval microhabitats of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. **J Med Entomol**, v. 34, n. 6, p. 719-728, 1997.

GAVGANI, A. S. et al. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial. **Lancet**, v. 360, n. 9330, p. 374-379, 2002.

GENARO, O. et al. Evaluation of an immunochromatographic assay for the diagnosis for dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania chagasi* in Brazil. **Acta Parasitol Turcica**, Suppl 21, n. 1, p.93, 1997.

GRADONI, L. et al. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VII. Studies on the role of the black rat, *Rattus rattus*, in the epidemiology of visceral leishmaniasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, n. 77, p. 427-431, 1983.

_____. et al. *Leishmania infantum* infection rates *Phlebotomus perniciosus* fed on naturally infected dogs under antimonial treatment. **Med Vet Entomol**, v.1, n. 4, p. 339-342, 1987.

GONTIJO, C. M. F. & MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev Bras Epidemiol**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Disponível em <http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em 20 nov. 2010.

JERONIMO, S. M. et al. Natural history of *Leishmania (Leishmania) chagasi* infection in Northeastern Brazil: long-term follow-up. **Clin Infect Dis**, v.30, n. 3, p. 608-609, 2000.

KILLICK-KENDRICK, R. et al. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. **Med Vet Entomol**, v. 11, n. 2, p. 105-11, 1997.

_____. A laboratory model of canine leishmaniasis: the inoculation of dogs with *Leishmania infantum* promastigotes from midguts of experimentally infected phlebotomine sandflies. **Parasite**, p. 1311-318, 1999.

KIRKPATRICK, C. E. et al. *Leishmania chagasi* and *L. donovani*: experimental infections in domestic cats. **Exp Parasitol**, v. 58, n. 2, p. 125-131, 1984.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. **The role of animals in the epidemiology of South American Leishmaniasis**. In: Lumsden WHR, Evans DA. *Biology of the kinetoplastida*. London: Academic Press, v. 2, p.1-16, 1979.

_____. et al. American visceral leishmaniasis: on the origin of *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 81, n. 3, p. 517, 1987

_____. et al. Amazonian visceral leishmaniasis – distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 85, n. 1, p. 135-137, 1990.

_____. *Leishmania* e Leishmaniose com particular referência à região Amazônica do Brasil. **Rev Paranaense Medicina**, v. 21, p. 1, 1997.

LUKES, J. et al. Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 104, n. 22, p. 9375-9380, 2007.

MAGALHAES, P. A. et al. Kala-azar in Rio Doce, Minas Gerais area. Results of prophylactic measures. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 22, n. 4, p. 197-202, 1980.

MAGALHÃES, P. B. **Ocorrência de leishmaniose visceral humana num ecossistema de manguezal – primeiro relato de surto e fatores de risco associados**. (Mestrado). Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa, Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Salvador, 2010. 98 p.

MANCIANTI, F. et al. Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 82, n.4, p. 566-567, 1988.

MARZOCHI, M. C. A. Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro. **Cad Saude Publ**, v. 1, n. 1, p. 5-17, 1985.

_____. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil anthropozoonosis and possibilities for their control. **Cad Saude Publ**, v. 10, n. 2, p. 359-375, 1994.

MAURICIO, I. L. et al. The strange case of *Leishmania chagasi*. **Parasitol Today**, v. 16, n.5, p. 188-189, 2000.

MESTRE, G. L. & FONTES, C. J. Expansão da epidemia da leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso, 1998-2005. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 40, n. 1, p. 42-48, 2007.

MILES, M. A. et al. **Canine Leishmaniasis in Latin America: Control Strategies for Visceral Leishmaniasis**. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum; Barcelona, Spain, p.46-53, 1999

MOMEN, H. & CUPOLILLO, E. Speculations on the origin and evolution of the genus *Leishmania*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 4, p. 583-588, 2000.

MONTEIRO, P. S. et al. Controle da leishmaniose visceral no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 27, n. 3, p. 67-72, 1994.

MORAES-SILVA, E. et al. Domestic swine in a visceral leishmaniasis endemic area produce antibodies against multiple *Leishmania infantum* antigens but apparently resist to *L. infantum* infection. **Acta Trop**, v. 98, p.176-182, 2006.

MOREIRA, J. R. et al. Assessment of an optimized dog-culling program in the dynamics of canine *Leishmania* transmission. **Vet Parasitol**, v. 122, p. 245-252, 2004.

MORRISON, A.C. et al. Host preferences of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of American visceral leishmaniasis in Colombia. **Am J Trop Med Hyg**, v. 49, n. 1, p. 68-75, 1993.

_____. Seasonal abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. **J Med Entomol**, v. 32, n. 4, p. 538-548, 1995.

MUTINGA, M. J. et al. Leishmaniasis in Kenya: description of leishmaniasis of a domestic goat from Transmara, Narok District, Kenya. **Trop Med Parasitol**, v. 40, n. 2, p. 91-96, 1989.

NASCIMENTO, M. D. S. B. et al. Aspectos epidemiológicos determinantes na manutenção da leishmaniose visceral no estado do Maranhão-Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 29, n. 3, p. 233-240, 1996.

_____. Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA (rK39 e CRUDE) e intradermorreação de Montenegro em área endêmica do Maranhão, Brasil. **Cad. Saude Publ**, v. 21, n. 6, p. 1801-1807, 2005.

NUNES, C. M. et al. Relationship between dog culling and incidence of human visceral leishmaniasis in an endemic area. **Vet Parasitol**, v. 170, n. 1-2, p. 131-133, 2010.

OLIVEIRA, S. S. et al., Leishmaniose visceral em Feira de Santana: inquérito sorológico em cães e a relação entre a distribuição da positividade canina por localidade e os casos humanos. **Rev Bras Anal Clín**, v. 30, n. 2, p. 61-63, 1998.

OLIVEIRA, S. S. & ARAUJO, T. M. Avaliação das medidas de controle da leishmaniose visceral em área endêmica da Bahia, Brasil - 1995-2000. **Cad Saude Publ.** v. 19, n. 6, p. 1681-1690, 2003.

PALATNIK-DE-SOUZA, C. B. et al. Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, v. 65, n. 5, p. 510-517, 2001.

PAPPAS, M. G. et al. Development of an antigen conservatite enzyme immunoassay (Dot-ELISA) for the rapid diagnosis of visceral leishmaniasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 77, n. 3, p. 425-426. 1983.

PARANHOS-SILVA M. et al. A cross-sectional serodiagnostic survey of canine leishmaniasis due to *Leishmania chagasi*, **Am J Trop Med Hyg**, v. 55, n. 1, p. 39-44, 1996.

PASSOS-DIAS, F. O. et al. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Cad Saude Publ**, v. 19, p. 1373-1380, 2003.

PENNISI, M. G. **A high prevalence of feline leishmaniasis in southern Italy. Canine leishmaniasis: moving towards a solution.** Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum. Sevilla, Spain, p.39-48, 2002.

QUINNELL, R. J. et al. Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. **Med Vet Entomol**, v. 6, n. 3, p. 195-200, 1992.

REITHINGER, R. & DAVIES, C. R. Canine leishmaniasis: novel strategies for control. **Parasitol**, v. 18, p. 289, 2002.

_____. et al. Are insecticide-impregnated dog collars a feasible alternative to dog culling as a strategy for controlling canine visceral leishmaniasis in Brazil? **Int J Parasitol**, v. 34, n. 1, p. 55-62, 2004.

SANDAR, S. & RAI, M. laboratory diagnosis of visceral Leishmaniasis. **Clin Diagn Lab Immunol**, p. 951-958, 2002.

SANTOS, S. O. et al. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. **Med Vet Entomol**, v. 12, n. 3, p. 315-317, 1998.

SAVANI, E. S. et al. The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felis catus*) from Cotia Country, Sao Paulo State, Brazil. **Vet Parasitol**, n. 120, n. 3, p. 229-233, 2004.

SERGEANT, E. D. et al. La leishmaniose a alger infection simultanée d'un enfant d'un chien et d'un chat dans la meme habitabion. **Bull Soc Pathol Exot**, n. 5, p. 93-98, 1912.

SHERLOCK, I. A. Notas sobre leishmaniose canina no estado da Bahia. **Rev Malariol Doen Trop**, v. 22, p. 231-242, 1969.

_____. et al. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 79, p. 511, 1984.

_____. Observações sobre calazar em Jacobina, Bahia. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 21, p. 541-548, 1996.

_____. Ecologica interactions of visceral leishmaniasis in the State of Bahia, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 6, p. 671-683, 1996a.

SILVA, J. R. Leishmaniose visceral (calazar). **Serviço Nacional de Educação Sanitária**. Rio de Janeiro, 498 p., 1957.

SILVA, A. R. et al. Leishmaniose visceral (calazar) na Ilha de São Luis, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 30, n. 5, p. 359-368, 1997.

_____. et al. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. **Cad Saude Publ**, v. 21, n. 1, p. 324-328, 2005.

SILVA, E. S. Urbanização da leishmaniose visceral na região metropolitana de Belo Horizonte. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 32, n. 3, Suppl. I, 1999.

SILVEIRA, F. T. et al. Leishmaniasis in Brazil: XVIII. Further evidence incriminating the fox *Cerdocyon thous* as a reservoir of Amazonian visceral leishmaniasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 76, p. 830-832, 1982.

SINAN: Dados de leishmaniose visceral no Brasil. Disponível em <http://www.saude.gov.br/sinanweb>. Acessado em 10 set. 2010

SOUZA, M. B. et al. Ausência da *Lutzomyia longipalpis* em algumas áreas de ocorrência de leishmaniose visceral no município do Rio de Janeiro. **Cad Saude Publ**, v. 19, n. 6, p. 1881-1885, 2003.

SOUZA, V. M. M. et al. Ensaio comunitário para avaliar a efetividade de estratégias de prevenção e controle da leishmaniose visceral no município de Feira de Santana, Bahia. **Epid Serv Saude**, v. 17, n. 2, p. 97-106, 2008.

TAVARES, C. A. et al., Molecular diagnosis of leishmaniasis. **Expert Rev Mol Diagn**, v. 3, n. 5, p. 657-667, 2003.

TESH, R. B. Control of zoonotic visceral leishmaniasis: is it time to change strategies? **Am J Trop Med Hyg**, v. 52, n. 3, p. 287-292, 1995.

TRAVI, B. L. et al. Didelphis marsupialis, an important reservoir of Trypanosoma (schizotrypanum) cruzi and Leishmania (Leishmania) chagasi in Colombia. **Am J Trop Med Hyg**, v. 50, n. 5, p. 557-565, 1994.

VANNUCCHI, H. et al. Avaliação do estado nutricional. **Medicina Ribeirão Preto** v. 29, p. 5-18, 1996

VIEIRA, J. B. & COELHO, G. E. Leishmaniose visceral ou calazar: aspectos epidemiológicos e de controle. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 31, Suppl. II, p. 85-92, 1998.

ZELEDON, R. et al. Ecology of Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912) and possibilities of the existence of visceral leishmaniasis in Costa Rica. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 79, n. 4, p. 455-459, 1984.

ZIJLSTRA E. E. et al. Diagnosing visceral leishmaniasis with the recombinant K39 strip test: experience from the Sudan. **Trop Med Int Health**, v. 6, n. 2, p. 108-113, 2001.

ZULUETA, A. M. et al. Epidemiologic aspects of American visceral leishmaniasis in an endemic focus in Eastern Venezuela. **Am J Trop Med Hyg**, v. 61, n. 6, p. 945-950, 1999.

WORD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Expert Committee. Control of leishmaniasis. Technical Report Series 793, 1990.

_____. Urbanization: a increasing risk factors for leishmaniasis. **Wkly Epidemiol Rec**, v. 77, p. 365-70, 2002.

10. ARTIGO

EFICÁCIA DE ESTRATÉGIA OTIMIZADA PARA TRIAGEM E ELIMINAÇÃO DE CÃES NO CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA

Simone Souza de Oliveira^{a,b}, Raimundo Celestino S. Neves^a, Verena Maria M.

Souza^a, Edson Duarte Moreira Jr.^a

^a Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia

^b Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia

Resumo: Realizou-se um estudo de ensaio comunitário com crianças entre 6 meses a 12 anos de idade, residentes numa área urbana, dividida aleatoriamente em área de intervenção (triagem e eliminação de cães a cada sete meses) e área controle, para avaliar a eficácia da estratégia otimizada para triagem e eliminação de cães soropositivos no controle e prevenção da leishmaniose visceral humana. Foram acompanhadas inicialmente 1206 crianças e no final do primeiro período (15 meses), após dois ciclos da intervenção, a incidência de soroconversão pelo teste imunoenzimático (ELISA) na área da intervenção não diferiu significativamente da incidência na área controle (RR=1,59; IC 95% 0,85-2,97). Porém, no final do segundo período (30 meses), depois de quatro ciclos da intervenção, a incidência de soroconversão foi menor na área da intervenção (RR=0,23; IC 95% 0,08 - 0,65). A eficácia da intervenção foi dependente do número de ciclos de triagens realizadas. A repetição dos ciclos da intervenção por mais tempo permite que os benefícios se acumulem e sejam alcançados os resultados dessa medida de controle.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral; Incidência; Controle; Prevenção.

Abstract: This is a community, with children aged 6 months to 12 years old, living in an urban area divided randomly into intervention (screening and elimination of dogs every seven months) and control area, to assess the effectiveness of optimal strategy for screening and elimination of seropositive dogs in the control and prevention of human visceral leishmaniasis. 1206 children were initially followed up and at the end of the first period (15 months), after two cycles of intervention, the seroconversion incidence by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in the intervention area did not differ significantly from the control area incidence (RR = 1.59, 95% CI 0.85 to 2.97). But late in the second period (30 months), after four cycles of intervention, the incidence of seroconversion was lower in the intervention area (RR = 0.23, 95% CI 0.08 to 0.65). The effectiveness of the intervention depends on the number of cycles of screenings conducted. Repeated cycles of intervention for longer time allows accumulate the benefits achieving the results of this control measure.

Key-words: Leishmaniasis visceral; Incidence; Control; Prevention.

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses compreendem uma das seis endemias mundiais de prioridade da Organização Mundial de Saúde devido ao seu caráter endemo-epidêmico, ocupando o segundo lugar em importância mundial entre as moléstias causadas por protozoários, superada apenas pela malária.^{1,2,3,4,5}

Desde o reinício do Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) em 1982, um aumento significativo na incidência de casos humanos e letalidade da doença tem sido reportado, caracterizando o controle da leishmaniose visceral humana (LVH) como um grande desafio e um problema de saúde pública no Brasil. Apesar do grande número de pesquisas sobre os diferentes aspectos da doença, questões cruciais para o seu controle ainda permanecem sem resposta definitiva.^{4,6,7,8,9} Como avaliar as intervenções de controle e antecipar epidemias? Porque as medidas de controle não têm sido capazes de impedir a expansão e o

aumento da incidência da LVH? Em vista disso, este estudo teve por objetivo avaliar a eficácia da triagem e eliminação de cães no controle e prevenção da LVH através de um ensaio comunitário numa área urbana endêmica do estado da Bahia.

2. MÉTODOS

2.1 Área

O estudo foi realizado na sede do município de Jequié, Bahia, localizado a 13°51'28"S e 40°05'02"O, a 112 km do Oceano Atlântico e a 215 metros de altitude, a 365 km de Salvador, no sudoeste da Bahia, na zona limítrofe entre a caatinga e a zona da mata, clima semi-árido, com temperatura média de 24°C e 500 mm de índice pluviométrico anual. O município possui uma população de 151.921 habitantes, dos quais 91,8% residem em área urbana.¹⁰ Foram selecionados 2 bairros que apresentavam elevada prevalência de LVH e leishmaniose visceral canina (LVC), presença do vetor *Lutzomyia longipalpis*, além de terem uma localização isolada e de fácil delimitação na periferia da cidade¹¹.

2.2 População do estudo

Após esclarecimentos quanto à natureza e às finalidades do estudo, foram admitidas todas as crianças das áreas selecionadas com idade entre 6 meses e 12 anos, com teste negativo para a presença de anticorpos contra-*Leishmania*. A coorte inicial foi acompanhada nas duas áreas, prospectivamente.

2.3 Desenho do estudo

Ensaio comunitário no período de dezembro de 1997 a junho de 2000. Os bairros Água Branca e São Judas Tadeu-Mutirão foram classificados por sorteio em: área controle (acompanhamento da população) e área da intervenção (triagem e eliminação de cães soropositivos), respectivamente. O desfecho principal foi a

infecção recente por *Leishmania*, identificada através da soroconversão por teste imunoenzimático (ELISA).

O inquérito inicial classificou os indivíduos em soronegativos e soropositivos para levantamento da prevalência de infecção por *Leishmania*. As crianças soronegativas, nesta primeira avaliação, foram incluídas no estudo e acompanhadas nas duas áreas, em mais dois inquéritos soroepidemiológicos realizados a intervalos de 15 meses, aproximadamente.

A intervenção consistiu na triagem sorológica de toda população canina no bairro de São Judas Tadeu-Mutirão e eliminação dos cães positivos. Foram realizadas intervenções a cada 7 meses, aproximadamente.

A fim de minorar algumas das limitações deste tipo de estratégia de prevenção, medidas foram adotadas para otimizar a intervenção: (i) substituição do teste de triagem de cães realizado pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI) em eluato de sangue coletado em papel de filtro - associada a baixas taxas de sensibilidade - pelo teste ELISA em soro; (ii) redução do tempo entre a realização da triagem e a remoção dos cães soropositivos para 14 dias no máximo; (iii) elevação das taxas de cobertura dos inquéritos caninos.

2.4 Coleta de dados

Inquérito soroepidemiológico humano

Utilizou-se um questionário estruturado, testado e validado, para a coleta de informações demográficas, sócio-econômicas e de infra-estrutura sanitária e ambiental, antecedentes médicos, migração recente, medidas antropométricas (peso e altura) para cálculo de indicadores nutricionais, além de outros fatores de risco para leishmaniose.^{12,13,14}

Avaliação sorológica das crianças

O teste de ELISA foi realizado de acordo com o protocolo padronizado no CPqGM-FIOCRUZ, usando-se como antígeno um lisado de *Leishmania chagasi*. Em cada placa as amostras, os soros controles positivos e negativos foram colocados em duplicata. O resultado positivo foi dado para o soro que apresentou densidade óptica superior ou igual ao ponto de corte de 0.104, obtido através da média mais três desvios-padrão de um painel de soros de 25 doadores negativos. Todos os soros positivos foram re-testados pelo menos uma vez.

Avaliação sorológica dos cães

Foram colhidos aproximadamente 10 ml do sangue da veia jugular ou radial, para sorologia de todos os cães. Para determinar a presença de anticorpos anti-*Leishmania* utilizou-se o teste de ELISA.¹¹ Foram incluídos controles positivo e negativo. O ponto de corte foi determinado a partir da média dos resultados obtidos com o soro de 102 cães saudáveis, de área não endêmica. Foram considerados positivos os cães com valores maiores que a média mais três desvios-padrões do “cut off” estabelecido. Todos os soros foram testados em duplicata e os resultados positivos re-testados pelo menos uma vez.

A retirada dos animais soropositivos da área ocorreu entre 10 a 12 dias, aproximadamente, após a coleta. Na eliminação, os cães foram anestesiados e, em seguida, receberam por via endovenosa ou intracardíaca, dose letal de cloreto de potássio (KCl) feita por técnicos qualificados, sob supervisão de médicos veterinários.

2.5 Processamento e análise dos dados

A entrada dos dados foi feita no programa EPI Info versão 6.04, utilizando sistema de checagem automática de erros. As análises estatísticas foram realizadas com os programas STATA, v 10.0 e RATES II.

As freqüências das variáveis principais e das co-variáveis foram computadas e apresentadas com as respectivas distribuições, estratificadas por área e período. O acompanhamento dos dois grupos produziu estimativas de incidência de infecção por período do estudo. As perdas ou acréscimos decorrentes de migração, morte ou nascimento foram ajustadas durante a análise através da computação do total de pessoa-tempo para os denominadores. A medida de freqüência utilizada foi a densidade de incidência, comparada por período, através da estimativa do risco relativo (RR) e respectivo intervalo de confiança de 95%. Além da análise simples, foi realizada análise multivariada controlando para potenciais variáveis de confusão. As variáveis com significância estatística (valor de $p < 0,10$) e/ou importância epidemiológica foram incluídas no modelo de riscos proporcionais (regressão de Cox). A comparação entre os modelos ajustados e a escolha do modelo final foi realizada através da estatística do teste da razão de verossimilhança parcial.

2.6 Considerações éticas

O estudo foi elaborado e executado segundo as diretrizes e normas que regem as pesquisas envolvendo seres humanos e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CPqGM-FIOCRUZ, Bahia.

A coleta de sangue dos cães só foi realizada após autorização dos proprietários.

3. RESULTADOS

Participaram da avaliação inicial 1.215 crianças com idade entre 6 meses e 12 anos: 632 (52%) crianças na área controle e 583 (48%) na área da intervenção do estudo. A soroprevalência no inquérito inicial foi semelhante nas duas áreas, 0,9% e 0,5%, respectivamente. Foram admitidas na coorte 1.206 crianças, 626 (51,9%) na

área controle e 580 na área da intervenção (48,1%). Ao final do primeiro período do estudo (dez/97 a mar/99), foram perdidas durante o seguimento 170 (27,2%) crianças na área controle e 107 (18,4%) na área da intervenção e o número de soroconversões foi igual a 17 na área controle e 25 na área da intervenção.

No segundo período (mar/99 a jun/00), ao grupo que permaneceu soronegativo somaram-se mais 230 crianças em cada área, totalizando 1.347 crianças, 669 na área controle e 678 na área da intervenção. Neste período, foram perdidas 268 (40,1%) crianças na área controle e 239 (35,2%) na área da intervenção. No 2º inquérito de acompanhamento sorológico, foram detectadas 23 crianças soropositivas para leishmânia, 16 na área controle e 7 na área da intervenção (Figura 1).

3.1 Características das crianças e dos domicílios

A distribuição da população por sexo, faixa etária e tempo de residência na cidade foi semelhante nas duas áreas. Quase metade das crianças (45%) tinha menos de seis anos e a maioria (79%) morava na cidade há três anos ou mais. As coortes eram também semelhantes quanto à distribuição dos indicadores nutricionais. Foi observado nos menores de 10 anos um percentual relativamente alto de crianças em risco nutricional (17,2%), com peso baixo para idade (7,7%) ou com altura baixa para idade (16,0%). Cerca de 11,3% das crianças maiores de 10 anos encontravam-se com baixo peso (Tabela 1).

A maior parte dos chefes de família possuía renda média mensal entre 1 a 2 salários mínimos (68,4%) e nível de escolaridade equivalente ao 1º grau (70,6%). Vale ressaltar o grande número de famílias com renda inferior a um salário mínimo (21,6%) e de chefes de família não alfabetizados (22,3%). No inquérito, houve um percentual significativamente maior de analfabetismo e renda baixa nos domicílios

da área controle comparado aos da área de intervenção. As demais variáveis analisadas apresentaram distribuição semelhante nas duas áreas do estudo. A presença de cão foi reportada em 44,2% dos domicílios não sendo significativamente diferente entre as duas áreas. A soroprevalência canina foi quase idêntica nas áreas controle e de intervenção, 18,2% e 18,8%, respectivamente. Dos domicílios que tinham criação de animais nos quintais, cerca de um terço criava galinha. A criação de porcos, apesar de menos freqüente, foi mais observada nos domicílios da área controle (Tabela 2).

No primeiro período, ou seja, após 15 meses de acompanhamento, a distribuição das características sócio-demográficas e dos indicadores nutricionais das crianças que permaneceram na coorte foi semelhante a aquela observada nas crianças perdidas durante o acompanhamento, tanto na área controle como na área da intervenção (Tabela 3). A única diferença observada foi quanto ao tempo de moradia em Jequié. Na área controle como na área da intervenção, as coortes sem seguimento tinham um percentual maior de casos morando há menos tempo na cidade.

No segundo período do estudo, após 30 meses de acompanhamento, observamos nas duas áreas do estudo que as crianças sem acompanhamento tinham composição etária mais jovem do que aquelas acompanhadas na coorte. Entretanto, a distribuição das outras características analisadas foi semelhante nas duas coortes (Tabela 4).

3.2 Densidade de incidência

Durante o primeiro ano do estudo, a incidência foi de 29,8/1000 crianças-ano na área controle e de 42,7/1000 crianças-ano na área da intervenção. Apesar da estimativa de risco de infecção ter sido maior na área da intervenção, esta diferença

não foi significativa, estatisticamente (RR=1,43; IC 95% 0,78–2,63). Na análise ajustada para: idade, sexo, criação de animais, presença de cão, renda e escolaridade do chefe da família, o risco relativo foi de 1,59 (IC 95% 0,85–2,97) (Tabela 5).

No segundo período do estudo, a incidência na área da intervenção foi menor do que na área controle, 13,1/1000 crianças-ano e 33,4/1000 crianças-ano, respectivamente. Esta diferença foi significativa, tanto na análise simples (RR=0,39; IC 95% 0,17–0,93) como na ajustada (RR=0,23; IC 95% 0,08–0,65), indicando uma redução no risco de infecção na área da intervenção ao fim do segundo período do estudo.

Não foi observada mudança significativa da incidência de soroconversão na área controle nos dois períodos (RR=1,12; IC 95% 0,57–2,22), entretanto, na área da intervenção a incidência no segundo período foi significativamente menor (RR=0,31; IC 95% 0,13–0,71).

4. DISCUSSÃO

Nossos resultados indicam que a intervenção não reduziu a incidência de novas infecções por *Leishmania* no primeiro período (15 meses) de observação. Entretanto, no final do segundo período (30 meses), houve uma redução de aproximadamente 61% na taxa de soroconversão na área submetida à intervenção comparada à área controle. Esta redução foi ainda maior na análise ajustada (77%).

Na comparação feita no final de 15 meses, a triagem e eliminação de cães soropositivos na área da intervenção havia sido realizada apenas duas vezes. Após 30 meses de acompanhamento, ou seja, no final do segundo período, a comparação entre as áreas é feita após a realização de quatro ciclos de intervenção. Portanto, o

impacto da intervenção foi aparentemente dependente do número de triagens realizadas até o momento da avaliação.

A estratégia de triagem e eliminação de cães, apesar de relativamente simples do ponto de vista conceitual, apresenta, muitas dificuldades e limitações para sua execução na prática: deficiência na sensibilidade dos testes de triagem, baixas taxas de cobertura dos censos caninos, presença de cães vadios não testados, demora na retirada dos cães positivos, falta de cooperação da população e altas taxas de natalidade e de renovação da população canina.^{15,16,17,18} Portanto, o grande número de limitações não justifica uma expectativa de alta eficácia desta intervenção, nem muito menos que estes resultados sejam alcançados imediatamente. Ao contrário, é de se esperar que as potenciais falhas resultantes destas limitações possam retardar ou até impedir que esta estratégia funcione na prevenção da LVH. É plausível que a repetição de intervenções em formato otimizado, como no presente estudo, possa minorar as limitações desta estratégia realizada isoladamente, levando à redução das taxas de soroconversão. Isto seria alcançado não pelo efeito de uma intervenção única, ou de um número reduzido de ciclos, mas pelo resultado cumulativo da repetição sustentada de ciclos de triagem/eliminação de cães ao longo de um período de tempo.

Apesar da infecção continuar ocorrendo com aproximadamente a mesma frequência na área controle, na área da intervenção, a taxa de infecção, diminuiu em quase dois terços. Estes dados reforçam a hipótese que a redução alcançada na infecção por leishmânia foi resultado da estratégia de controle e não de uma tendência temporal de redução ou de variação sazonal na ocorrência da infecção na área estudada.

Uma vez implantado o PCLV no Brasil, vários estudos não controlados foram realizados com objetivo de avaliar o impacto das medidas de controle na redução da incidência da LVH.^{19,20} Estes estudos detectaram diminuição concomitante entre o número de casos humanos e caninos de LV. O inverso foi observado no Ceará, após a interrupção da campanha de controle no campo.²¹ A partir da análise de correlação entre o número de ciclos de inquérito canino e a incidência de LVH, estudos realizados em Feira de Santana, Bahia e Araçatuba, São Paulo, demonstraram que a efetividade da intervenção aumenta gradativamente, a medida que a mesma é repetida ao longo do tempo.^{22,23} Entretanto, estudo realizado na Ilha de Marajó, não detectou redução na incidência de LVH. Os autores referem que a efetividade da triagem e eliminação de cães depende de um diagnóstico acurado, capaz de detectar qualquer animal infectado, principalmente aqueles no período latente da infecção.²⁴

Nossos resultados são consistentes com outros estudos de intervenção controlados, que demonstraram eficácia da intervenção (triagem/eliminação de cães soropositivos) na redução da incidência de casos humanos.^{17,25} Em Jacobina, Bahia, a redução de casos de LVH em menores de 15 anos foi estatisticamente significativa em comparação a área controle durante 4 anos de acompanhamento.¹⁷ Em Teresina, Piauí, verificou-se redução significativa na incidência de LVH onde foi realizada a borrifação intradomiciliar com eliminação de cães soropositivos, indicando o efeito protetor da eliminação de cães adicionalmente ao efeito propiciado pela borrifação.²⁵ Apesar da eficácia da triagem e eliminação de cães não ter sido detectada no Espírito Santo¹⁶, estes achados são aparentemente inconsistentes com o presente estudo, tendo em vista que, a redução da incidência

de LVH também não foi detectada no primeiro período do estudo, quando foram realizados apenas dois ciclos de triagem/eliminação de cães.

Em nosso estudo foram escolhidos dois bairros próximos e semelhantes para minimizar diferenças sócio-demográficas, ambientais e climáticas. As coortes de crianças apresentaram características bastante semelhantes, maximizando o poder estatístico do estudo.

No início do estudo, as áreas controle e da intervenção eram comparáveis embora houvesse um maior percentual de analfabetismo e renda baixa entre os chefes de família na área controle. Isto não parece ter afetado o risco de infecção por *Leishmania*, já que a incidência de soroconversão foi semelhante nas duas áreas no primeiro período do estudo. Além disso, a redução observada na comparação de incidências no segundo período permaneceu presente na análise ajustada para escolaridade e renda do chefe da família. A soroprevalência de anticorpos anti-*Leishmania* virtualmente idêntica nos cães das duas áreas apóia a premissa que, além de semelhantes, as áreas estavam sujeitas também a um risco de infecção semelhante.

Uma limitação importante do nosso estudo foi a taxa de perda de acompanhamento, apesar de não ter sido maiores que a de outros estudos.^{16,25,26} Na maioria das características analisadas, as crianças sem acompanhamento não diferiram significativamente daquelas acompanhadas, tanto na área controle quanto na da intervenção. Portanto, as taxas de perda, ainda que altas, não estavam relacionadas a fatores de risco para infecção. Assim, é improvável que tenham introduzido viés nos nossos resultados.

5. CONCLUSÕES

A intervenção não foi eficaz na redução da incidência da infecção por leishmânia no final do primeiro período, após a realização de dois ciclos da triagem canina. Entretanto houve uma redução importante (77%) da infecção na avaliação ao final do segundo período, após a realização de quatro ciclos da triagem canina, sugerindo que a eficácia da intervenção é dependente do número de ciclos de triagem/eliminação de cães realizados.

As limitações e as potenciais falhas resultantes da intervenção impossibilitam que esta ação tenha um resultado imediato. A sua repetição por um período sustentado, pode minorar estas limitações e permitir que esta estratégia seja eficaz. Por fim, não basta otimizar a estratégia de intervenção, é preciso repetir os ciclos por tempo suficiente para atingir redução nas taxas de infecção por leishmânia.

6. REFERÊNCIAS

1. **WORD HEALTH ORGANIZATION (WHO)**. Expert Committee. Control of leishmaniasis. Technical Report Series 793, 1990.
2. _____. Programme for the surveillance and control of leishmaniasis. 2001 Disponível em <http://www.who.int/emc/diseases/leish/index.html>.
3. PALATNIK-DE-SOUZA, C. B. et al. Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, v. 65, n. 5, p. 510-517, 2001.
4. DESJEUX, P. **Urbanisation of the leishmaniasis. Communicable disease surveillance and response, emerging public health risks (CSR/EPH)**. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum. Sevilla, Spain, p.49-55, 2002.
5. **World Health Organization (WHO)**. Urbanization: a increasing risk factors for leishmaniasis. *Wkly Epidemiol Rec*, v. 77, p. 365-70, 2002.
6. CORREDOR, A. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. **Am J Trop Med Hyg**, v. 40, n. 5, p. 480-486, 1989.

7. TESH, R. B. Control of zoonotic visceral leishmaniasis: is it time to change strategies? **Am J Trop Med Hyg**, v. 52, n. 3, p. 287-292, 1995.
8. GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev Bras Epidemiol**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.
9. MESTRE, G. L. ; FONTES, C. J. Expansão da epidemia da leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso, 1998-2005. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 40, n. 1, p. 42-48, 2007.
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Disponível em <http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em 20 nov. 2010.
11. PARANHOS-SILVA M. et al. A cross-sectional serodiagnostic survey of canine leishmaniasis due to *Leishmania chagasi*, **Am J Trop Med Hyg**, v. 55, n. 1, p. 39-44, 1996.
12. BRASIL.Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Geral de políticas de Alimentação e Nutrição. **Vigilância Alimentar e Nutricional-SISVAN: orientações básicas para a coleta e análises de dados antropométricos em serviço de saúde. Normas e manuais técnicos**. Brasília, 2004.
13. VANNUCCHI, H. et al. Avaliação do estado nutricional. **Medicina Ribeirão Preto** v. 29, p. 5-18, 1996.
14. BARBOSA, R. M. S. et al. Avaliação do estado nutricional de escolares segundo três referências. **Rev Paul Pediatr**, v. 27, n. 3, p. 243-250, 2009.
15. DYE, C. The logic of visceral leishmaniasis control. **Am J Trop Med Hyg**, v. 55, n. 2, p. 125-130, 1996.
16. DIETZE, R. et al. Effect of eliminating seropositive canines on the transmission of visceral leishmaniasis in Brasil. **Clin Infect Dis**, v. 25, n.5, p.1240-1242, 1997.
17. ASFORD, D. A. et al. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, v. 55, n. 1, p. 53-57, 1998.
18. MOREIRA, J. R. et al. Assessment of na optimized dog-culling program in the dynamics of canine Leishmania transmission. **Vet Parasitol**, v. 122, p. 245-252, 2004.
19. MAGALHAES, P. A. et al. Kala-azar in Rio Doce, Minas Gerais area. Results of prophylactic measures. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 22, n. 4, p. 197-202, 1980.

20. JERONIMO, S. M. et al. Natural history of Leishmania (Leishmania) chagasi infection in Northeastern Brazil: long-term follow-up. **Clin Infect Dis**, v.30, n. 3, p. 608-609, 2000.
21. ALENCAR J. E. et al. Aspectos atuais do calazar no Ceará. **Rev Bras Malariol Doenças Trop**, v. 26-27, p. 27-53, 1974.
22. OLIVEIRA, S. S.; ARAUJO, T. M. Avaliação das medidas de controle da leishmaniose visceral em área endêmica da Bahia, Brasil - 1995-2000. **Cad Saude Publ.** v. 19, n. 6, p. 1681-1690, 2003.
23. NUNES, C. M. et al. Relationship between dog culling and incidence of human visceral leishmaniasis in an endemic area. **Vet Parasitol**, v. 170, n. 1-2, p. 131-133, 2010.
24. COURTENAY, O. et al. Infectiousness in a cohort of brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. **J Infect Dis**, v. 186, n. 9, p. 1314-1320, 2002.
25. COSTA C. H. N. et al. Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 40, n. 4, p. 415-419, 2007.
26. SOUZA, V. M. M. et al. Ensaio comunitário para avaliar a efetividade de estratégias de prevenção e controle da leishmaniose visceral no município de Feira de Santana, Bahia. **Epid Serv Saude**, v. 17, n. 2, p. 97-106, 2008.

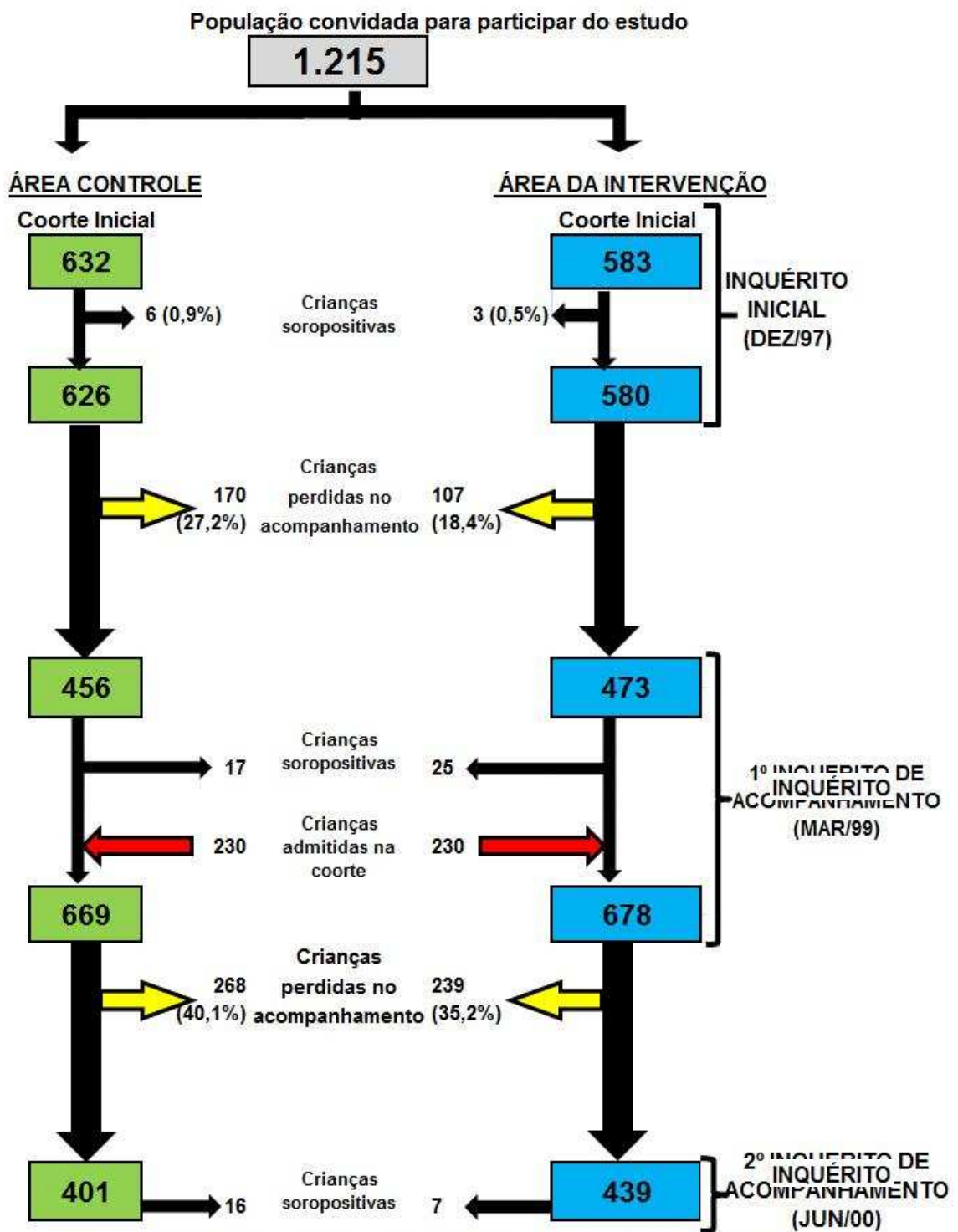


Figura 1 – Fluxograma de entrada e saída de crianças participantes da coorte do estudo, Jequié (1997-2000)

Tabela 1 - Distribuição (%) das principais características de 1.206 crianças avaliadas na coorte inicial nas áreas de estudo, Jequié, Bahia, 1997.

Características	Área Controle (N=626)	Área da Intervenção* (N=580)	Total (N=1.206)	Valor de p**
Gênero				
Masculino	46,8	47,9	47,3	0,729
Feminino	53,2	52,1	52,7	
Idade				
< 1 ano	3,0	3,6	3,3	0,891
1 ano	9,1	8,1	8,6	
2 anos	9,1	6,8	8,0	
3 anos	8,1	8,3	8,2	
4 anos	8,5	9,4	8,9	
5 anos	7,8	7,5	7,6	
6 a 7 anos	16,3	17,0	16,6	
8 a 9 anos	17,3	16,8	17,0	
10 a 11 anos	20,8	22,5	21,6	
Tempo de moradia em Jequié				
≤ 1 ano	11,4	9,4	10,4	0,412
2 anos	10,8	10,8	10,8	
3 anos	13,9	11,4	12,7	
4 anos	10,0	12,1	11,0	
≥ 5 anos	53,9	56,3	55,1	
Indicadores nutricionais (< 10 anos)				
	(N=496)	(N=447)	(N=943)	
<i>Razão peso para idade (percentil)</i>				
Peso muito baixo (0-1)	2,8	4,5	3,6	0,146
Peso baixo para idade (>1 a <3)	8,5	6,9	7,7	
Risco nutricional (3 a 10)	19,6	14,5	17,2	
Peso adequado (≥10 a < 97)	66,9	71,4	69,0	
Risco sobrepeso (≥ 97)	2,2	2,7	2,4	
<i>Razão peso para altura (percentil)</i>				
Baixo peso para altura (<3)	3,2	2,9	3,1	0,334
Risco baixo peso para altura (≥3 a <10)	8,9	7,4	8,2	
Peso adequado para altura (≥10 a <97)	83,7	83,0	83,4	
Risco sobrepeso para altura (≥ 97)	4,2	6,7	5,4	
<i>Razão altura para idade (percentil)</i>				
Altura baixa para idade (<3)	17,1	14,8	16,0	0,239
Risco altura para idade (≥3 a <10)	16,3	13,2	14,8	
Altura adequada para idade (≥10 a <97)	61,9	68,2	64,9	
Altura elevada para idade (≥ 97)	4,6	3,8	4,2	
Indicadores nutricionais (≥ 10 anos)				
	(N=128)	(N=128)	(N=256)	
<i>Índice de Massa Corporal (percentil)</i>				
Baixo peso (< 5)	13,3	9,4	11,3	0,071
Peso adequado (≥5 a <85)	78,9	88,3	86,6	
Sobrepeso (≥ 85)	7,8	2,3	5,1	

* Triagem e eliminação de cães

** Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

Tabela 2 - Distribuição (%) das principais características de 604 domicílios avaliados na coorte inicial nas áreas de estudo, Jequié, Bahia, 1997.

Características	Área Controle (N=304)	Área da Intervenção* (N=300)	Total (N=604)	Valor de p**
Escolaridade chefe da família (n=578)				
Não alfabetizado	26,0	18,6	22,3	< 10 ⁻³
1º grau	71,2	70,0	70,6	
2º grau e mais	2,8	11,4	7,1	
Renda mensal da família				
< 1 salário mínimo	26,2	17,0	21,6	< 10 ⁻³
1 a 2 salários mínimos	69,2	67,7	68,4	
3 a 4 salários mínimos	3,3	8,7	6,0	
> 4 salários mínimos	1,3	6,7	4,0	
Número de moradores				
2 a 3	19,9	17,3	18,6	0,711
4 a 5	47,5	48,7	48,1	
6 a 7	32,6	34,0	33,3	
Número de cômodos				
≤ 3	24,9	27,5	26,2	0,690
4 a 5	64,1	60,7	62,4	
≥ 6	11,0	11,7	11,4	
Abastecimento de água				
Público canalizado	95,0	95,3	95,2	0,567
Poço/nascente não canalizado	0,0	0,3	0,2	
Outro	5,0	4,3	4,6	
Instalações sanitárias				
Ausente	7,0	7,1	7,0	0,207
Fora do domicílio	55,1	48,1	51,7	
Dentro do domicílio	37,9	44,8	41,3	
Energia elétrica	95,0	97,3	96,2	0,143
Presença de cão	40,5	48,0	44,2	0,070
Criação de animais no quintal				
Galinha	35,9	32,7	34,3	0,441
Porco	13,5	7,3	10,4	0,016
Outro(s) (Gato, cavalo, boi, cabra)	30,6	29,1	29,8	0,722
Borrifação com inseticida (último ano)	93,1	93,6	93,3	0,441
Ocorrência de casos prévios de Calazar	2,3	5,0	3,6	0,086
Prevalência de cão soropositivo***	18,2	18,8	18,8	0,999

*Triagem e eliminação de cães

** Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

***Em amostra aleatória de cães na área controle (n=22) e em censo da população canina na área da intervenção (n=223)

Tabela 3 – Distribuição de características (%) das crianças acompanhadas na coorte e daquelas sem seguimento no primeiro período do estudo (Dez/97 a Mar/99) de acordo com a área, Jequié, Bahia. 106

Característica	Coorte na Área Controle			Valor de p**	Coorte na Área da Intervenção*			Valor de p**
	Inicial (N=626)	Com acompanhamento (N=456)	Sem acompanhamento (N=170)		Inicial (N=580)	Com acompanhamento (N=473)	Sem acompanhamento (N=107)	
Sexo								
Masculino	46,8	46,9	46,5	0,918	47,9	47,8	48,6	0,878
Feminino	53,2	53,1	53,5		52,1	52,2	51,4	
Faixa etária								
< 1 ano	3,0	2,4	4,7		3,6	2,8	7,5	
1 ano	9,1	7,7	12,9		8,1	8,1	8,4	
2 a 3 anos	17,3	16,2	20,0		15,1	14,7	16,8	
4 a 5 anos	16,3	16,2	16,5	0,071	16,8	17,0	15,9	0,244
6 a 7 anos	16,3	16,4	15,9		17,0	18,1	12,1	
8 a 9 anos	17,3	18,0	15,3		16,8	17,2	15,0	
≥ 10 anos	20,8	23,0	14,7		22,5	22,1	24,3	
Renda mensal da família								
< 1 salário mínimo	26,3	25,9	27,5		19,1	20,9	11,2	
1 a 3 salários mínimos	69,2	68,6	70,7	0,143	65,9	64,7	71,0	0,064
> 3 salários mínimos	4,5	5,5	1,8		15,0	14,4	17,8	
Escolaridade do chefe da família (N=591)		(N=426)	(N=165)		(N=563)	(N=462)	(N=101)	
Não alfabetizado	27,7	30,0	21,2		23,1	24,7	15,8	
1º grau	69,7	67,1	76,4	0,083	68,4	67,1	74,3	0,158
2º grau e mais	2,5	2,6	2,4		8,5	8,2	9,9	
Tempo de moradia em Jequié (N=590)		(N=436)	(N=154)		(N=545)	(N=452)	(N=93)	
≤ 1 ano	11,4	9,2	17,5		9,4	9,1	10,8	
2 anos	10,8	9,6	14,3		10,8	8,6	21,5	
3 anos	13,9	14,9	11,0	0,014	11,4	11,7	9,7	0,007
4 anos	10,0	9,9	10,4		12,1	12,6	9,7	
≥ 5 anos	53,9	56,4	46,8		56,3	58,0	48,4	

* Triagem e eliminação de cães

**Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

Tabela 4 – Distribuição de características (%) das crianças acompanhadas na coorte e daquelas sem seguimento no segundo período do estudo (Mar/99 a Jun/00) de acordo com a área, Jequié, Bahia.

Característica	Coorte na Área Controle		Valor de p**	Coorte na Área da Intervenção*		Valor de p**
	Inicial (N=669)	Sem acompanhamento (N=268)		Inicial (N=678)	Sem acompanhamento (N=239)	
Sexo						
Masculino	49,0	49,3	0,924	51,0	54,4	0,196
Feminino	51,0	50,7		49,0	45,6	
Faixa etária			0,001			0,050
< 1 ano	0,4	1,1		1,0	0	
1 ano	9,7	13,8		10,0	13,0	
2 a 3 anos	17,5	19,8		17,0	18,4	
4 a 5 anos	14,3	15,3		17,0	16,7	
6 a 7 anos	16,3	17,2		15,6	18,4	
8 a 9 anos	16,7	13,1		14,3	12,6	
≥ 10 anos	25,0	19,8		25,1	20,9	
Renda mensal da família	(N=615)	(N=358)		(N=623)	(N=390)	(N=233)
< 1 salário mínimo	11,9	10,3		11,7	11,8	
1 a 2 salários mínimos	80,2	82,1	0,316	67,1	68,2	0,640
≥ 3 salários mínimos	8,0	7,5		21,2	20,0	
Escolaridade do chefe da família	(N=590)	(N=342)		(N=617)	(N=388)	(N=229)
Não alfabetizado	37,5	36,3		26,9	25,5	
1º grau	59,2	60,2	0,776	64,3	67	0,145
2º grau e mais	3,4	3,5		8,8	7,5	
Tempo de moradia em Jequié	(N=433)	(N=282)		(N=545)	(N=362)	(N=183)
≤ 1 ano	9,9	7,8		11,6	9,4	
2 anos	10,2	9,9		11,9	11,0	
3 anos	14,8	13,5	0,173	11,0	10,5	0,103
4 anos	9,9	10,3		11,7	11,9	
≥ 5 anos	55,2	58,5		53,8	57,2	

* Triagem e eliminação de cães

**Valor de p obtido por teste Qui-quadrado

Tabela 5 - Incidência de soroconversão para anticorpo anti-leishmânia na área controle e na área da intervenção por período de observação, Jequié, Bahia, 1997-2000.

Períodos	Soro conversão	Total criança-ano	Incidência*	Risco Relativo (95% IC) ‡	Risco Relativo Ajustado *** (95% IC) ‡
Primeiro (Dez/97-Mar/99)					
Área controle	17	570,9	29,8	(Referência)	(Referência)
Área intervenção**	25	585,4	42,7	1,43 (0,78-2,63)	1,59 (0,85-2,97)
Segundo (Mar/99-Jun/00)					
Área controle	16	478,8	33,4	(Referência)	(Referência)
Área intervenção**	7	532,7	13,1	0,39 (0,17-0,93)	0,23 (0,08 -0,65)

‡ IC - Intervalo de confiança 95%

* Por 1.000 criança-ano

** Triagem e eliminação de cães soropositivos

*** Ajustado para as variáveis: idade, sexo, nível de instrução do chefe da família, presença de cão no domicílio, criação de galinha, porcos e instalações sanitárias no domicílio.

11. APÊNDICES

11.1 APÊNDICE A – Questionário

Programa Integrado de Endemias em Jequié - PIEJ

SESAB PMJ FNS CPqGM-FIOCRUZ SETRAS	Secretaria da Saúde do Estado da Bahia Prefeitura Municipal de Jequié Ministério da Saúde - Fundação Nacional de Saúde Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - FIOCRUZ e Secretaria do Trabalho e Ação Social
---	---

Questionário do Inquérito Humano sobre Leishmaniose Visceral

Nome do Chefe(a) da Família: _____
 Profissão: _____

Nome da mãe _____

Chefe da família estudou até que série? _____ série Não alfabetizado [0]

Entrevistador:: _____ Data da entrevista: ___/___/___

Endereço: _____ Nº: _____ COELBA _____ FNS: _____

Bairro: Lot. Água Branca [1]

Lot. SJT - Mutirão [2]

Registro da Família:

Dados sobre a Família/Domicílio

1. Total de moradores da casa: _____
2. Número de crianças a participar da pesquisa (>6 m e < 12): _____
3. Número de cômodos: _____
4. Número de quartos : _____

5. De onde vem a água usada em casa ?
- [1] EMBASA
 - [2] Cisterna/Poço
 - [3] Ambos
 - [4] Outro : _____

- | | | |
|--|---------------------------------------|---|
| 5.1 Tem caixa d'água? Sim [1]
Não [2] | 5.2 É fechada? Sim [1]
Não [2] | 5.3 Lava a caixa todo ano? Sim [1]
Não [2] |
|--|---------------------------------------|---|

6. A água de beber :
- | | | | |
|---|-----------|-----------|----------------|
| 6.1 Usa água para beber da EMBASA (Clorada) | Sim [1] | Não [2] | Às vezes [3] |
| 6.2 Você filtra a água de beber? | Sim [1] | Não [2] | Às vezes [3] |
| 6.3 Você ferve a água de beber? | Sim [1] | Não [2] | Às vezes [3] |
| 6.4 Você coa a água de beber? | Sim [1] | Não [2] | Às vezes [3] |
| 6.5 Você bebe água de poço / cisterna? | Sim [1] | Não [2] | Às vezes [3] |

7. Guarda a água de beber onde?
- [1] Filtro, talha/tonel ou vaso com torneira
 - [2] Talha/tonel ou vaso sem torneira (com caneca)
 - [3] Moringa ou garrafa
 - [4] Consumo direto da torneira (não armazena)

- | | | |
|-------------------------------------|------------------------|---------------------------------------|
| 8. A coleta de lixo é feita sempre? | Sim [1]
Não [2] | 8.1 Caso não. Onde joga o lixo? _____ |
|-------------------------------------|------------------------|---------------------------------------|

9. Tem sanitário / banheiro em casa?

- [1] Ausentes
 [2] Fora de casa comum a vários domicílios
 [3] Fora de casa, exclusiva do domicílio
 [4] Dentro de casa

10. Esgoto da casa:

- [1] Fossa
 [2] Rede de esgoto canalizada
 [3] Esgoto a céu aberto (vai para rua/riacho)

10.1 Tem esgoto aberto na rua ou nos fundos da casa? Sim [1]
 Não [2]

(Falar para o entrevistado que esta informação é confidencial, ou seja, não será passada a ninguém)

11. Renda total da família por mês ? _____ Salário (s) ou R\$ _____

Fatores de Risco

12. Criou ou ainda cria cão em casa do ano passado até hoje? (ou da última pesquisa até hoje?)

Sim [1] 12.1 Quantos? _____
 Não [2]

13. Já teve algum cão positivo para calazar? (que foi eliminado pela SUCAM ?)

Sim [1] 13.1 Quantos? _____ 13.2 Quando? (Último / Mais recente) ____/____
 Não [2]
 Não sabe [9]

14. Tem algum vizinho próximo (1 casa em qualquer direção) que criou ou ainda cria cão do ano passado até hoje?

Sim [1]
 Não [2]
 Não sabe. [9]

15. Tem algum vizinho próximo (1 casa em qualquer direção) cujo cão foi eliminado pela SUCAM do ano passado até hoje?

Não [1]
 Sim [2]
 Não sabe. [9]

16. Cria qual animal no quintal? Sim [1]
 Não [2]

Caso sim, qual(is)?

17. Galinhas Sim [1] Não [2]

18. Porcos Sim [1] Não [2]

19. Outro(cabra, carneiro, jumento, cavalo,boi) Sim [1] 19.1 Qual? _____
 Não [2]

20. Vizinho próximo (1 casa em qualquer direção) cria animais no quintal?

Sim [1]
 Não [2]

Caso sim, qual(is)?

22. Galinhas Sim [1] Não [2]

23. Porcos Sim [1] Não [2]

24. Outro(cabra, carneiro, jumento, cavalo,boi) Sim [1] 24.1 Qual? _____
 Não [2]

25. A SUCAM aplicou inseticida dentro da casa do ano passado até hoje?

Sim [1] 25.1 Quantas vezes? _____ 25.2 Última data: ____/____/____
 Não [2]
 Não sabe [9]

Antecedentes Médicos da Família

26. Já houve algum caso de Calazar entre os moradores desta casa? Sim [1] 26.1 Quantas pessoas? _____
 Não [2]
27. Nome: _____ 28. Data nasc: ___/___/___
29. Ano da doença: _____ 30. Cidade em que morava quando adoeceu: _____
31. Nome: _____ 32. Data nasc: ___/___/___
33. Ano da doença: _____ 34. Cidade em que morava quando adoeceu: _____

Dados Individuais

1. Nome da criança: _____
2. Registro Individual: - -
3. Data de nascimento: ___/___/___ 4. Idade: _____ 5. Sexo: Masc [1] Fem [2]
6. Naturalidade: _____

Dados Epidemiológicos

7. Há quanto tempo mora em Jequié? _____ ano(s)
8. Já morou em outra localidade? Sim [1] 8.1 Qual? _____
 Não [2]
 Não sabe [9]
9. Em caso de já ter morado em mais municípios, listar quais?
 1) _____
 2) _____
 3) _____

Antecedentes Médicos

10. Já foi tratado para Calazar alguma vez? Sim [1] 10.1 Quando (ano)? _____ Onde? _____
 Não [2]
 Não sabe [9]

Dados Antropométricos/Nutricionais

11. Peso: _____ Kg
12. Altura : _____ cm
13. Resultado do ELISA:
 Neg [0]
 Pos [1]
 Indet. [3]
 NR [9]

11.1 APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido

Programa Integrado de Endemias em Jequié - PIEJ

SESAB

Secretaria da Saúde do Estado da Bahia

PMJ

Prefeitura Municipal de Jequié

FNS

Ministério da Saúde - Fundação Nacional de Saúde

CPqGM-FIOCRUZ

Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - FIOCRUZ e

SETRAS

Secretaria do Trabalho e Ação Social

Prezados Pais

O Programa Integrado de Endemias em Jequié - PIEJ - está desenvolvendo na cidade um estudo sobre controle e prevenção do Calazar. Um problema de saúde sério, que não tratado pode levar à morte. Os pacientes ficam pálidos, têm febre e aumento do volume da barriga. Assim, estamos realizando uma entrevista e fazendo exames para anemia e calazar, numa gota de sangue do(s) seu(s) filho(s). Para tanto, solicitamos a sua autorização para realizar este exame. Informamos que o exame será realizado com uma picada de agulha no dedo e que todo material utilizado será totalmente descartável. Os resultados desses exames lhe serão enviados tão logo fiquem prontos.

Garantimos o atendimento médico a toda e qualquer complicação resultante destes procedimentos, bem como acompanhamento médico de todos aqueles identificados como portadores da infecção por leishmania. Asseguramos ainda, o sigilo completo das informações fornecidas, bem como dos resultados dos exames. A não participação neste estudo não implicará em prejuízo do seu atendimento em nenhuma das instituições participantes.

Autorizo a coleta de sangue em meu(s) filho(s).

Data: __/__/__

Nome da(s) criança(s): _____

Nome do Responsável: _____

Assinatura do Responsável: _____